

EDITORES

Salvador Cárdenas Rojas
Juan Miguel Mancera Romero
Manuel Rey Méndez
César Lodeiros Seijo

ORGANIZAN



Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y MEDIO AMBIENTE



Unión Europea
Fondo Europeo
de Desarrollo Regional



Sociedad Española
de Acuicultura



PATROCINAN



COLABORAN



V FORO IBEROAMERICANO DE LOS RECURSOS
MARINOS Y LA ACUICULTURA

Libro de Actas



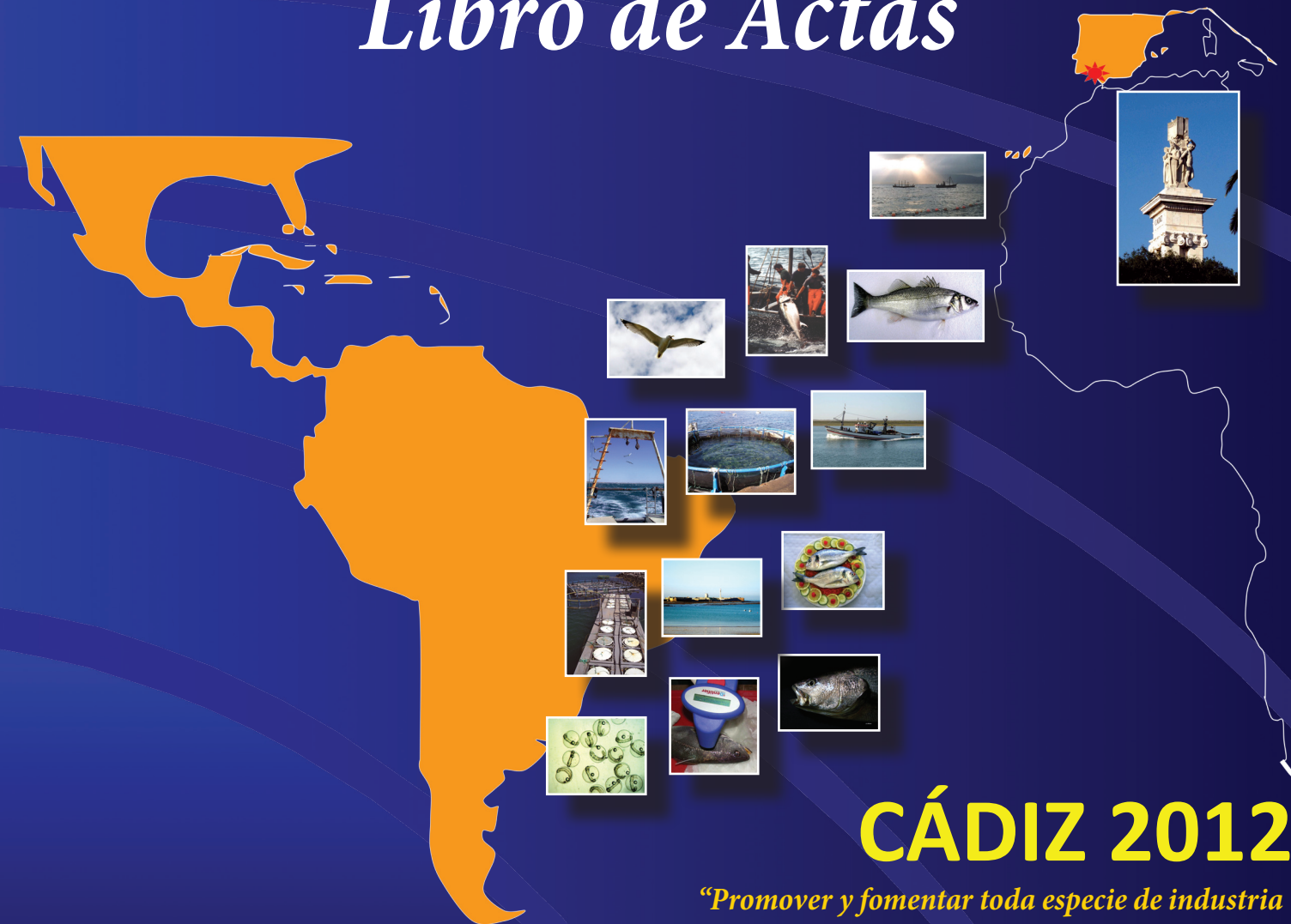
FORO IBEROAMERICANO
DE LOS RECURSOS
MARINOS Y LA
ACUICULTURA

Cádiz, España, 26-29 de noviembre de 2012

Un mar de recursos
puente entre las dos orillas



Libro de Actas



CÁDIZ 2012

“Promover y fomentar toda especie de industria
y remover los obstáculos que la entorpezcan”
(Art. 131, 21. Constitución de Cádiz de 1812)

www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/firma2012

**Y FORO IBEROAMERICANO DE
LOS RECURSOS MARINOS Y LA
ACUICULTURA**

Este libro debe ser citado de la siguiente manera:

Todo el libro:

Cárdenas S., Mancera J.M., Rey-Méndez M. y Lodeiros C. 2013. *V Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y de Acuicultura*. 742 pp. Edit. Asociación Cultural Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas, Santiago de Compostela, A Coruña, España.

Para un trabajo en especial (ejemplo):

Ruiz-Ríos, Leoncio. Estado de la acuicultura dulceacuícola en Perú. *V Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.* Cárdenas S., Mancera J.M., Rey-Méndez M., Lodeiros C. (eds.): 95-105.

Imprenta: Martínez Encuadernaciones, A.G., S.L., Puerto Real, Cádiz, España.

Maquetación: Rosa M^a Martín y Belén Rodríguez

Depósito Legal: CA 397-2013

ISBN: 978-84-695-9072-0

PRESENTACIÓN

El crecimiento de la población mundial, con una proyección de 8,3 mil millones de personas para el 2030, preocupa altamente por la incapacidad de proveerles alimentos. En este sentido, los sistemas acuáticos de mares y océanos, por ocupar 2/3 de la superficie terrestre muestran tener un papel preponderante como suplidores de alimento. No obstante, a pesar que se han aumentado las flotas y el esfuerzo pesquero, las capturas permanecen estancadas desde el año 1995, con una tasa de crecimiento media de solo 1,1% y enfrentan una variedad de restricciones. Por otra parte, la FAO alerta que el 52% de las poblaciones marinas están sobreexplotadas.

Iberoamérica en general y España en particular, no escapan de este escenario global, ya que mantienen una elevada tasa de natalidad y el consumo per capita de pescado, como un alimento sano, sigue aumentando; sin embargo, algunos recursos pesqueros muestran signos de sobreexplotación (atún, boquerón, corvina, etc.). Aunado a ello, el cambio climático avanza produciendo desastres e irregularidades en la naturaleza acuática.

En vista de lo anteriormente planteado, el V Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura (V FIRMA Cádiz 2012), engendrado en el 2007 de la mano de la Universidad de Santiago de Compostela y la Universidad de Oriente, en el Foro de los Recursos Marinos y de la Acuicultura de las Rías Gallegas, que año a año se celebra en O Grove (Pontevedra, España), permitió iniciar un debate más amplio, integrando a los países iberoamericanos, en función de la necesidad inmediata de fijarse objetivos comunes para atender la preocupación de la creciente degradación de los océanos y de las zonas costeras, promover el manejo sostenible de los recursos vivos marinos a través de una pesca razonable, recuperar los bancos naturales y promover la acuicultura.

El V FIRMA Cádiz 2012 nos brindó la oportunidad de poder discutir sobre el diagnóstico y la pertinencia de enfocar estrategias para la pesca y la acuicultura en España e Iberoamérica, donde se establecieron debates de importancia que, sin duda, guiarán una mejor administración pesquera y promoción de la acuicultura. La participación de representantes de organismos como el IFAPA, UCA, SEA, CSIC, IEO, ICCM, Universidad de Santiago de Compostela, cuya afinidad lingüística y cultural surgida por efecto de la emigración, entre otras situaciones, mantiene fuertes vínculos a lo largo de generaciones con una afinidad y correspondencia, en particular con las regiones de Andalucía y Galicia en España, y que sin duda dieron frutos para el enfoque y desarrollo común.

En fin, creemos que se cumplirán los objetivos y también que se sembraron semillas cuya fertilidad se comprobará en futuras ediciones en Iberoamérica. Con el impulso e ilusión de

todos nos resta la responsabilidad de seguir fertilizando el agua en otros países iberoamericanos, con el objetivo final de lograr una producción acuícola ordenada y sostenible, al servicio del desarrollo social.

COMITÉS

COMITÉ DE HONOR

▶ **S.A.R EL PRÍNCIPE DE ASTURIAS**

D. Felipe de Borbón y Grecia

▶ **MINISTRO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE**

Sr. D. Miguel Arias Cañete

▶ **ALCALDESA DE CÁDIZ**

Sra. Dña. Teófila Martínez Sáiz

▶ **CONSEJERO DE AGRICULTURA, PESCA Y MEDIO AMBIENTE**

Excmo. Sr. D. Luis Planas Puchades

▶ **PRESIDENTE DE LA DIPUTACIÓN DE CÁDIZ**

Ilmo. Sr. D. José Loaiza García

▶ **RECTOR MAGNÍFICO DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**

Sr. D. Eduardo González Mazo

▶ **RECTORA DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE DE VENEZUELA**

Dra. Milena Bravo de Romero

▶ **PRESIDENTE DEL IFAPA**

Sr. D. Victor Ortíz Somovilla

COMITÉ ORGANIZADOR

- ▶ **PRESIDENTE:** D. Salvador Cárdenas
Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA)
Junta de Andalucía
- ▶ **VICEPRESIDENTE:** D. Daniel Beaz
Sociedad Española de Acuicultura (SEA)
- ▶ **SECRETARIO GENERAL:** D. José Luis Muñoz
Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) y Sociedad Española de Acuicultura (SEA)
- ▶ **SECRETARIA TÉCNICA:** Dña. Rosa María Martín
Asociación Cultural Foro de los Recursos Marinos y la Acuicultura
- ▶ **VOCALES:**
 - Dña. Paloma Carballo
Secretaría General de Pesca
Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA)
 - D. Daniel Acosta
Dirección General de Pesca y Acuicultura (CAPMA)
Junta de Andalucía
 - D. Javier Remiro
Fundación Observatorio Español de la Acuicultura (FOESA)
 - D. Eladio Santaella
Instituto Español de Oceanografía (IEO)
 - D. Jacobo Fernández Casal
INSUIÑA-Pescanova
 - D. Juan Miguel Mancera
Universidad de Cádiz (UCA)
 - Dña. Chita Guisado
Universidad de Valparaíso (Chile)

COMITÉ CIENTÍFICO

- ▶ **PRESIDENTE:** Dr. Juan Miguel Mancera
Universidad de Cádiz (UCA)
- ▶ **VICEPRESIDENTA:** Dra. Catalina Fernández
Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA)
Junta de Andalucía
- ▶ **COORDINADOR:** Dr. César Lodeiros
Instituto Oceanográfico de Venezuela
Universidad de Oriente
- ▶ **VOCALES:**
 - Dr. Morris Villarroel
Sociedad Española de Acuicultura (SEA)
 - Dr. Ignacio Sobrino
Instituto Español de Oceanografía (IEO)
 - Dr. Manuel Rey-Méndez
Asociación Cultural Foro de los Recursos Marinos y la Acuicultura
Universidad de Santiago de Compostela
 - Dr. Javier Ruiz
Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC)
 - Dr. Alejandro Guerra
Centro de Investigaciones Marinas (CIMA)
 - Dra. Nieves González
Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM)
 - Prof. Salvador Cárdenas
Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA)
Junta de Andalucía

ÍNDICE

PÁX

Cronograma	17
Programa del FIRMA	19
Sesión de Recursos Marinos	25
<i>Plan de pesca de la navaja (Ensis arcuatus, Jeffreys) Cofradía de Cangas: ejemplo de autorregulación de un recurso sostenible</i>	
Lorenzo García J.L., Barreiro Rios M.B.	27
<i>Situación actual de la pesca artesanal del robalo Centropomus undecimalis en el sureste de México</i>	
Perera-García M.A., Hernández-Gómez R., Huerta-Ortiz M., Mendoza-Carranza M., Contreras-Sánchez W.M.	37
<i>La ostra perla Pinctada imbricata en Nueva Cádiz de Cubagua: pasado, presente y futuro</i>	
Lodeiros Seijo C., Prieto A.	47
Sesión de Oceanografía	61
<i>La capacidad de carga como criterio en la selección de zonas de interés acuícola</i>	
Perán A., Gutiérrez J.M., Belmonte A., Aliaga, V.	63
<i>Dinámica de población y metabolismo del ctenóforo Bolinopsis vitrea en la bahía de Cádiz</i>	
Prieto L., Macías D.	77
Sesión de Acuicultura Americana	93
<i>Estado de la acuicultura dulceacuícola en Perú</i>	
Leoncio Ruiz Ríos	95
<i>Potencial Acuícola de Iberoamérica</i>	
Jover M., Cárdenas S.	107
Sesión de Acuicultura Europea y Desarrollo Empresarial	119
<i>Senda empresarial de la acuicultura marina en el sur de Europa</i>	
Ojeda J.	121

Sesión de Seguridad Alimentaria y Sanidad en Acuicultura	129
<i>Proyecto piloto de seguridad alimentaria de producción comercial de tilapia en comunidades rurales de Guatemala</i>	
García P.J., Jiménez R., Villagrán E.R., Oliva M., Fernández M., Castro A.M., García J.F.	131
Sesión de Cultivo de Algas.....	141
<i>Aspectos funcionales de las microalgas en la acuicultura</i>	
Cañavate J.P.	143
<i>Gestión del carbono en microalgas marinas cultivadas en fotobiorreactor</i>	
García-Fuentes A., Forja J., Lubián L.M	157
<i>Utilización de <i>Scenedesmus almeriensis</i> como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en piensos para juveniles de dorada</i>	
Jiménez J.A., Vizcaíno A.J., Barros A., Hidalgo L., Cerón M.C., Camacho J., Martínez T.F. Moriño M.A., López-Figueroa F., Mancera J.M. , Alarcón F.J.	167
Sesión de Acuicultura	181
<i>Efecto de múltiples ciclos de congelación-descongelación sobre la calidad del filete de corvina <i>Argyrosomus regius</i></i>	
Suárez M.D., Sáez M.I., Martínez-Prados A., Molina B., Martínez T., Saavedra M., Cárdenas S.....	183
PANELES	195
<i>Actividad digestiva de la corvina cultivada (<i>Argyrosomus regius</i>, Asso 1801)</i>	
García-Mesa S., Sáez M.I., García-Gallego M., Martínez T., Cárdenas S., Suárez M.D.....	197
<i>Análisis de macrofauna bentónica como servicio empresarial para los estudios ambientales en el medio marino</i>	
Aguirre E., Barro S., García S., Toribio A.....	207
<i>Actividad enzimática en digestivo de <i>Argyrosomus regius</i></i>	
García L., Yamuza M.P., Bruzón M.A., Moyano F.J.....	217
<i>Análisis del sistema productivo acuícola en Puerto Almanza, Tierra del Fuego. Sostenibilidad y consolidación de la zona de cultivo de mejillón (<i>Mytilus chilensis</i>)</i>	
Bertolotti M.I., Pagani A., Gualdoni P., Errazti E.	225

<i>Caracterización de la calidad de la ostra portuguesa <i>Crassostrea angulata</i> y la ostra del pacífico <i>Crassostrea gigas</i></i>	
Sáez M.I., Oliveira M., Serra S., Venegas E., Martínez T.F., Suarez M.D., Bandarra N.M., Ruano F., Batista F.M., Grade A., Gonçalves A.	239
<i>Ciclo gonadal, talla de primera madurez y potencial reproductor de <i>Chamelea gallina</i> (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz</i>	
Delgado M., Silva L., Martínez E., Juárez A.	251
<i>Criopreservación de microalgas marinas: <i>Nannochloropsis gaditana</i>, <i>Rhodomonas lens</i>, <i>Cylindrotheca closterium</i>, <i>Chaetoceros gracilis</i>, <i>Synechococcus sp.</i> e <i>Isochrysis aff. galbana</i> clon T-ISO</i>	
Paredes E., Costas D., Casal A., Cortina-Burgueño A., Lubián L.M.	263
<i>Cuotas individuales transferibles de captura de la especie merluza (<i>Merluza hubbsi</i>) en el Sector Pesquero Artesanal de Argentina</i>	
Errazti E., Bertolotti M.I., Gualdoni P., Pagani A., Buono J., Cassanelli M.	275
<i>Demanda de oxígeno por el pienso no consumido en piscicultura marina</i>	
Ruiz-Castrillón E., Forja J., Ponce R., Gómez-Parra A.	281
<i>Diseño, desarrollo y fabricación de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio como elemento clave en la investigación oceanográfica</i>	
Toribio A., Barro S., García S., Aguirre E.	297
<i>Diversidad genética de la claca, <i>Megabalanus azoricus</i> (Pilsbry, 1916), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)</i>	
Quinteiro J., Manent P., Clemente P., Pérez-Dieguez L., Rodríguez-Castro J., Goíz A.R., Alves A., Araújo R., Dellinger T., Carreira G., Gonçalves J., Mendoza H., Rey-Méndez M., González-Henríquez N.	307
<i>Diversidad genética de la vieja, <i>Sparisoma cretense</i> (Linnaeus, 1758), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)</i>	
Clemente P., Quinteiro J., Manent P., Rodríguez-Castro J., Pérez-Dieguez L., Goíz A.R., Alves A., Araújo R., Dellinger T., Carreira G., Gonçalves J., Mendoza H., Rey-Méndez M., González-Henríquez N.	315
<i>Diversidad genética del camarón soldado, <i>Plesionika edwardsii</i> (Brandt, 1851), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)</i>	
Manent P., Quinteiro J., Clemente P., Rodríguez-Castro J., Pérez-Dieguez L., Goíz A.R., Alves A., Araújo R., Dellinger T., Carreira G., Gonçalves J., Mendoza H., Rey-Méndez M., González-Henríquez N.	323

<i>Diversidad genética del cangrejo moro, Grapsus adscensionis (Osbeck, 1765), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)</i>	
Manent P., Quinteiro J., Clemente P., Rodríguez-Castro J., Pérez-Dieguez L., Goíz A.R., Alves A., Araújo R., Dellinger T., Carreira G., Gonçalves J., Mendoza H., Rey-Méndez M., González-Henríquez N.	331
<i>Diversidad genética del pulpo, Octopus vulgaris (Cuvier 1797), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)</i>	
Quinteiro J., Manent P., Clemente P., Rodríguez-Castro J., Pérez-Dieguez L., Goíz A.R., Alves A., Araújo R., Dellinger T., Carreira G., Gonçalves J., Mendoza H., Rey-Méndez M., González-Henríquez N.	339
<i>Edad y crecimiento de Chamelea gallina (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz</i>	
Delgado M., Silva L., Martínez E., Moura P., Gaspar M.	347
<i>Efecto de distintos tipos de iluminación en el cultivo de las paralarvas del pulpo común (Octopus vulgaris Cuvier, 1797)</i>	
Garrido D., Reis D., Orol D., Gonçalves R., Martín M.V., Sykes A.V., Rodríguez C., Felipe B.C., Santamaría F.J., Zheng X., Almansa E.	357
<i>Efecto de la densidad de cultivo sobre el crecimiento en juveniles de liseta (Chelon labrosus)</i>	
de las Heras V., Martos-Sitcha J.A., Mata J.A, Yúfera M., Martínez-Rodríguez G., Mancera J.M.	371
<i>Efecto del amoníaco y la dureza del agua en la expresión de prolactina, hormona del crecimiento, somatolactina y niveles plasmáticos de cortisol en el pez de agua dulce Rhamdia quelen</i>	
Martos-Sitcha J.A., Martínez-Rodríguez G., Mancera J.M., Toni C., Prati R.L., García L.O., Salbego J., Baldisserotto B.	383
<i>Efectos del amonio sobre el metabolismo energético del lenguado senegalés (Solea senegalensis)</i>	
Ruiz-Jarabo I., Janse J., Mancera J.M.	393
<i>Eficiencia digestiva en la langosta Panulirus argus: enzimas digestivas y dietas artificiales</i>	
Perera E., Moyano F. J., Martínez-Rodríguez G., Mancera J. M.	407
<i>El consumo de erizo de mar en Andalucía: preferencias y hábitos territoriales</i>	
Álvarez P., Fernández M., Hidalgo F., Norman C.	421

<i>El cultivo del erizo de mar común, Paracentrotus lividus: piensos de finalización, sexo y calidad comercial del color gonadal</i>	
Álvarez P., Hidalgo F., Norman C.	429
<i>Engorde de corvina Argyrosomus regius en estanque de tierra hasta los 3 años</i>	
Saavedra M., Muñoz J.L., Marengo J.L., Cárdenas S.	439
<i>Estudio comparado de la actividad proteasa alcalina de la corvina (Argyrosomus regius, Asso 1801) y otras especies de peces cultivados</i>	
García-Mesa S., Sáez M.I., García-Gallego M., Martínez T., Cárdenas S., Suárez M.D.	449
<i>Estudio de flora ficológica de interés comercial en la costa de Granada</i>	
Norman C., Guerrero D., Ortega C.	461
<i>Estudio de la actividad enzimática y de la mucosa intestinal en juveniles de dorada alimentados con piensos suplementados con Scenedesmus almeriensis</i>	
Vizcaíno A.J., Jiménez J.A., López G., Barros A., Hidalgo L., Cerón M.C., Macías-Sánchez M.D., Martínez T.F., Alarcón F.J.	471
<i>Estudio sobre la incorporación al Mar de Alborán de nuevas especies ictiológicas de interés comercial</i>	
Norman C., Garrido A., Hidalgo F.	487
<i>Flujos de gases con efecto invernadero a la atmósfera en tres sistemas del Parque Natural Bahía de Cádiz</i>	
Visintini-Adomaitis N., Ortega T., Forja J.M.	501
<i>Influencia de la densidad de carga sobre el metabolismo energético en juveniles de bagre (Rhamdia quelen)</i>	
Menezes C.C., Ruiz-Jarabo I., Toni C., Salbego J., Becker A., Cunha M.A., Loro V.L., Baldisserotto B., Mancera J.M.	507
<i>Influencia de la salinidad ambiental sobre la capacidad proteolítica de la liseta (Chelon labrosus)</i>	
Pujante I.M., Mancera J.M., Moyano F.J.	521
<i>Influencia de las bases orgánicas sobre la cuantificación de la alcalinidad total en el agua de mar de sistemas de elevada productividad primaria</i>	
Valiente S., Gurgel H., Forja J., Ortega T.	533

<i>Influencia de las características de las pozas y de procesos oceanográficos de mesoescala en la ictiofauna residente de la zona intermareal rocosa (Golfo de Cádiz)</i>	
Compairé J.C., Casademont P., Gómez-Enri J., Cabrera R., Soriguer M.C.	545
<i>La liseta (Chelon labrosus): crecimiento a partir de proteína vegetal en estadios juveniles</i>	
de las Heras V., Martos-Sitcha J.A., Mata J.A., Dias J., Conceição L.E.C., Martínez-Rodríguez G., Yúfera M.	555
<i>Larvicultura del pargo Pagrus pagrus (Linnaeus, 1758) en diferentes condiciones de cultivo</i>	
Suárez-Miler M.M., Jiménez M.T., Cárdenas S.	565
<i>Main pathologies affecting the common cockle Cerastoderma edule from the Spanish Mediterranean coast</i>	
Rojas M., Aceituno P., Furones D., Carrasco N.	575
<i>Perfil electroforético de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares de la corvina (Argyrosomus regius) sometida a diferentes frecuencias de alimentación</i>	
Suárez M.D., García-Mesa S., Sáez M.I., Rodríguez-Rúa A., García-Gallego M., Martínez T., Cárdenas S.	589
<i>Perkinsosis of the commercial black scallop Chlamys varia from the Spanish Mediterranean</i>	
Aceituno P., Rojas M., Gairin I., Furones D., Carrasco N.	601
<i>Producción secundaria y dinámica poblacional de la pepitona Arca zebra ubicada en Isla Caribe, costa norte de la Península de Araya, Estado Sucre, Venezuela</i>	
Prieto A., Aponte A., Acosta V., Ruiz L.	613
<i>Régimen de Administración por cuotas individuales transferibles de captura 2010-2011</i>	
Bertolotti M.I., Buono J., Pagani A., Errazti E., Gualdoni P.	629
<i>Respuesta de la expresión de hormonas hipofisarias en juveniles de bagre (Rhamdia quelen) sometidos a diferentes densidades de cultivo</i>	
Menezes C.C., Martos-Sitcha J.A., Toni C., Salbego J., Becker A., Mancera J.M., Loro V.L., Baldisserotto B., Martínez-Rodríguez G.	645
<i>Shewanella putrefaciens Pdp11 bioencapsulada en Artemia salina modifica su composición bioquímica y mejora el crecimiento larvario y postlarvario de Solea senegalensis (Kaup, 1858)</i>	
Lobo C., García de la Banda I., Rodríguez C., Moriñigo M.A., Moreno-Ventas X., Canteras J.C., Pazos G.	657

<i>Sobre la presencia de puestas de huevos del calamar diamante (Thysanoteuthis robus, Troshel 1857) en el Atlántico este subtropical (Islas Canarias). ¿Un nuevo recurso pesquero para Canarias?</i>	
Escánez A., Riera R., Tobeña M., González Á.F., Guerra Á.	671
<i>Utilização de sequências do DNA mitocondrial (citocromo oxidase I – COI) em filogenia de cefalópodes</i>	
Lopes J.C.O., Mendes C., Silva R., Sanjuan A.	681
<i>Utilização do gene 5S rDNA em diferenciação genética de cefalópodes</i>	
Lopes J.C.O., Mendes C., Silva R., Sanjuan A.	689
<i>Utilización de microalgas en la alimentación de juveniles de lenguado senegalés: efecto sobre la actividad enzimática intestinal</i>	
López G., Vizcaíno A.J., Rodiles A., Barros A., Hidalgo L., Cerón M.C., Macías-Sánchez M.D., Martínez T.F., Hachero I., Herrera M., Cordero M.L., Alarcón F.J.	695
<i>Vacunación de Solea senegalensis (Kaup, 1858) frente a Photobacterium damsela subsp. piscicida con y sin adyuvante de Freund: efectos a nivel de respuesta inmune y de crecimiento</i>	
Lobo C., Núñez-Díaz J.A., Arijó S., García de la Banda I., Gutiérrez J.R., Moreno-Ventas X., Balebona M.C.	707
<i>Variación interanual de la abundancia pesquera en la cuenca alta del río Usumacinta, Tabasco, México</i>	
Huerta-Ortiz M., Perera-García M.A., Hernández-Gómez R.E., Mendoza-Carranza M., Ortiz-Hernández M.	717
<i>Viabilidad y condiciones del cultivo del misidáceo Gastrosaccus roscoffensis (Percararida, Mysida)</i>	
Escánez A., Riera R., Márquez L., Skalli A., Felipe B., García-Herrero I., Reis D., Rodríguez C., Almansa E.	723

CRONOGRAMA

LUNES 26/11/2012	MARTES 27/11/2012	MIÉRCOLES 28/11/2012	JUEVES 29/11/2012
	9:00-11:00 SESIÓN RECURSOS MARINOS	9:00-11:00 SESIÓN ACUICULTURA AMERICANA	9:00-10:50 SESIÓN CULTIVO DE ALGAS
	11:00-12:00 CAFÉ	11 :00-12:00 CAFÉ	10:50-11:30 CAFÉ
	12:00-14:00 SESIÓN RECURSOS MARINOS	12:00-14:00 SESIÓN ACUICULTU- RA EUROPEA Y DESARROLLO EMPRESARIAL	11:30-12:30 SESIÓN ACUICULTURA
	14:00-16:00 ALMUERZO LIBRE	14:00-16:00 ALMUERZO LIBRE	12:30-13:00 PRESENTACIÓN VI FIRMA Chile 2013
16:00-18:30 REGISTRO	16:00-17:20 SESIÓN OCEANOGR- FÍA	16:00-17:40 SESIÓN SEGURIDAD ALIMENTARIA Y SANIDAD EN ACUICULTURA	13:00-18:00 CLAUSURA
19:00-20:00 INAUGURACIÓN	17:20-18:00 CAFÉ	17:40-18:00 CAFÉ	
20:00-21:00 CONFERENCIA INAUGURAL	18:00-19:30 SESIÓN OCEA- NOGRAFÍA	18:00-19:30 SESIÓN ACUICULTU- RA Y DESARROLLO SOSTENIBLE	

PROGRAMA Y FIRMA CÁDIZ 2012

LUNES, 26 DE NOVIEMBRE DE 2012

16:00-18:30-Registro de congresistas en la Facultad de Filosofía de la Universidad de Cádiz, Avenida Gómez Ulla, 1, 11003, Cádiz.

19:00-20:00-Inauguración oficial en el Salón Regio de la Diputación de Cádiz.

20:00-21:00-Conferencia inaugural a cargo del Dr. Fidel Echevarría (Catedrático de la Universidad de Cádiz y Gestor del Programa Nacional de Ciencia y Tecnología Marinas). La investigación en Ciencias Marinas en España: un puente sobre aguas turbulentas.

21:00-21:30-Recital del Dúo ALQUIMIA DEL SUR.

21:30-22:30-Copa de Bienvenida de Vino Español.

MARTES, 27 DE NOVIEMBRE DE 2012

Sesión de Recursos Marinos, moderada por Ignacio Sobrino (Director del Centro Oceanográfico de Cádiz, IEO).

9:00-9:30-Eduardo Balguerías (Director del Instituto Español de Oceanografía). Investigación Oceanográfica-Pesquera entre Iberoamérica y el Instituto Español de Oceanografía.

9:30-9:50-José Luis Lorenzo (Pescador de la Cofradía de Pescadores de Cangas del Morrazo, España). Plan de pesca de la navaja (*Ensis arcuatus*) de la Cofradía de Cangas: ejemplo de autorregulación de un recurso sostenible.

9:50-10:10-Martha Alicia Perera (Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México). Situación actual de la pesca artesanal de dos especies de robalo *Centropomus undecimalis* en el sureste de México.

10:10-10:30-José Manuel Moreno (Centro IFAPA Alameda del Obispo, España). Aplicación de los isótopos estables en los recursos marinos.

10:30-10:50-José Luis Varela (Universidad de Cádiz, España). Alimentación y migración trófica de las poblaciones de atún rojo (*Thunnus thynnus*) del Mar Cantábrico.

10:50-11:00-Debate.

11:00-12:00-CAFÉ Y SESIÓN DE PANELES

Sesión de Recursos Marinos moderada por César Lodeiros (Coordinador Científico de

la Universidad de Oriente, Venezuela)

12:00-12:20-Daniel Acosta (Jefe del Servicio de Ordenación de Recursos Pesquero y Acuicola, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía). Sistema de localización y seguimiento de embarcaciones pesqueras andaluzas.

12:20-12:40-Carlos Montero (Técnico de Pesquerías para España y Portugal de Pesca Sostenible Certificada MSC). Función de las eco-etiquetas en la pesca sostenible certificada.

12:40-13:00-César Lodeiros (Coordinador Científico de la Universidad de Oriente, Venezuela). La ostra perla en Nueva Cádiz, pasado, presente y futuro.

13:00-13:20-Alejandro Guerra (Director del CIMA, Xunta de Galicia). El papel de los criaderos en el desarrollo de la acuicultura de moluscos.

13:20-13:40-Alejandro Pérez-Matus (Universidad de Valparaíso). Los peces de arrecifes templados del Pacífico Sur: una visión general de su hábitat, diversidad y conservación.

13:40-14:00-Debate.

14:00-16:00-ALMUERZO LIBRE

Sesión de Oceanografía moderada por Renato Quiñones (Centro FONDAP-COPAS, Universidad de Concepción, Chile)

16:00-16:20-Javier Ruiz (ICMAN, CSIC, Puerto Real, España). ¿Cuanto podemos drenar el océano? Riesgos e incertidumbres en la explotación de ecosistemas marinos.

16:20-16:40-Laura Prieto (ICMAN, CSIC, Puerto Real, España). Dinámica de población y metabolismo del ctenóforo *Bolinopsis vitrea* en la bahía de Cádiz.

16:40-17:00-Antonio Belmonte (TAXON S.L., Murcia, España). La capacidad de carga como criterio en la selección de zonas de interés acuícola.

17:00-17:20-Debate.

17:20-18:00-Café y sesión de paneles

Sesión de Oceanografía moderada por Javier Ruiz (Investigador Científico, ICMAN, CSIC)

18:00-18:20-Renato Quiñones (Universidad de Concepción, Chile): Título por determinar

18:20-18:40-José Carlos Sánchez-Garrido (Universidad de Málaga, España). What cause the collapse of the western Alboran gyre?.

18:40-17:00-Jesús M. Mercado (Instituto Español de Oceanografía, Málaga): Evaluando el

impacto del cambio global sobre las comunidades planctónicas del mar de Alborán

19:00-19:20-Debate.

MIÉRCOLES, 28 DE NOVIEMBRE DE 2012

Sesión de Acuicultura americana moderada por Manuel Rey-Méndez (Presidente de la Asociación Foro de los Cultivos Marinos y la Acuicultura).

9:00-9:20-Chita Guisado (Universidad de Valparaíso, Chile). Factibilidad de cultivo del pepino de mar en Chile.

9:20-9:40-Leoncio Ruiz (Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú). Estado de la acuicultura dulceacuícola en Perú.

9:40-10:00-Manuel Lira (Fundación Sonora, Hermosillo, México). La camaronicultura en México y oportunidades de diversificación de la acuicultura.

10:00-10:20-Miguel Jover (Universidad Politécnica de Valencia, España). Potencial acuícola de Iberoamérica.

10:20-10:40-Lessi Catacora (Colegio de Ingenieros del Perú): Experiencias del cultivo extensivo de lisas (*Mugil cephalus*) en el CPM -Los Palos en el litoral de Tacna-Perú.

10:40-11:00-Debate.

11:00-12:00-Café y sesión de paneles

Sesión de Acuicultura europea y Desarrollo empresarial moderada por Jacobo Fernández (PESCANOVA).

12:00-12:20-Juan Manuel García de Lomas (Gerente de CTAQUA, España). La innovación en acuicultura: una asignatura pendiente.

12:20-12:40-Javier Ojeda (Gerente de APROMAR, España). Senda empresarial de la acuicultura marina en el Sur de Europa.

12:40-13:00-Antonio Concepción (Presidente de ASEMA, España). La piscicultura andaluza.

13:00-13:20-José Manuel Gaitero (Subdirector General de Pesca, Dirección General de Pesca, Junta de Andalucía). Desarrollo de la acuicultura en el contexto europeo.

13:20-13:40-María Luisa Cordero (Directora del Centro IFAPA Agua del Pino, España). Transferencia de la investigación acuícola y pesquera en el IFAPA.

13:40-14:00-Debate.

14:00-16:00-Almuerzo libre

Sesión de Seguridad Alimentaria y Sanidad en Acuicultura moderada por Carmen Sarasquete (ICMAN, CSIC)

16:00-16:20-Dolors Furones (Directora del Centro de Acuicultura del IRTA, San Carlos de la Rápita, España). Gestión Sanitaria en Acuicultura. De la escala global a la local.

16:20-16:40-Manuela Vaz-Velho (Directora de la Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal). Bioconservação por adição de bactérias ácido-lácticas e das suas bacteriocinas-um instrumento para reduzir o risco de contaminação de *Listeria monocytogenes* em pescado fumado a frio.

16:40-17:00-Pedro Julio García-Chacón (Director del Instituto de Investigaciones Hidrobiológicas, CEMA, Universidad de San Carlos de Guatemala). Proyecto piloto de seguridad alimentaria de explotación comercial de tilapia en comunidades rurales de Guatemala.

17:00-17:20-Carmen Sarasquete (Directora de Instituto Ciencias Marinas de Andalucía, CSIC, Cádiz, España). Biomarcadores y bioindicadores en acuicultura y medioambiente.

17:20-17:40-Debate

17:40-18:00-Café y sesión de paneles

Sesión de Acuicultura y Desarrollo sostenible moderada por Antonio Ruiz-Molina (Universidad de Málaga).

18:00-18:30-Cristina García-Díez (Técnico de proyectos de FOESA, Madrid). Desarrollo sostenible, conceptos y aproximación a la actividad acuícola.

18:30-18:50-Nieves González (ICCM, España). Innovación acuícola: Compartiendo recursos mediante Acuicultura Multitrófica Integrada.

18:50-19:10-Antonio Ruiz-Molina (Universidad de Málaga). La sostenibilidad económica y la acuicultura.

19:10-19:20-Juan Manuel Fernández-Aldana (APROMAR, España). Cooperación internacional y empresa privada.

19:20-20:00-Debate

20:00-20:30-Desplazamiento en autobús hasta una Bodega.

20:30-22:00-Visita de una Bodega y Degustación de Vinos de Jerez.

Jueves, 29 de noviembre de 2012

Sesión de Cultivo de Algas moderada por Catalina Fernández (Coordinadora del Área de Acuicultura y Pesca, IFAPA).

9:00-9:30-Pedro Cañavate (Centro IFAPA El Toruño, El Puerto de Santa María, España).

Aspectos funcionales de las microalgas en la acuicultura.

9:30-9:50-Carlos Unamunzaga (FITOPLANCTON MARINO (Easyalgae), El Puerto de Santa María, España). Una visión integrada de las aplicaciones de las microalgas.

9:50-10:10-Luis Lubián (ICMAN, CSIC, Puerto Real, España). Gestión del carbono en microalgas marinas cultivadas en fotobioreactor.

10:10-10:30-Javier Alarcón (Universidad de Almería). Utilización de *Scenedesmus almeriensis* como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en piensos para juveniles de dorada.

10:30-10:50-Debate.

10:50-11:30-Café y sesión de paneles

Sesión de Acuicultura moderada por Juan Miguel Mancera (Universidad de Cádiz) y Martha Alicia Perera (Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México).

11:30-11:50-Luis Vargas-Chacoff (Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile). Estado de la acuicultura en Chile: el robalo *Eleginops maclovinus* como una posible opción de diversificación acuícola.

11:50-12:10-María Dolores Suárez (Universidad de Almería). Efecto de múltiples ciclos de congelación-descongelación sobre la calidad del filete de corvina (*Argyrosomus regius*).

12:10-12:30-Rosa Vázquez (Universidad de Cádiz, Puerto Real, España). Bienestar en experimentación en acuicultura y medio ambiente.

12:30-12:50-Debate.

12:50-13:00-PRESENTACIÓN del VI FIRMA 2013 (Viña del Mar, Chile) por Chita Guisado (Universidad de Valparaíso, Chile).

13:00-13:30-CLAUSURA del V FIRMA Cádiz 2012.

13:30-14:30-Desplazamiento en Autobús hasta Chiclana (Cádiz).

14:30-15:00-Despesque en los Esteros de una Salina de Chiclana.

15:00-18:00-Almuerzo de Despedida en la Salina.

SESIÓN DE RECURSOS MARINOS

D. Eduardo Balguerías. Director del Instituto Español de Oceanografía, IEO.

D. José Luis. Pescador de la Cofradía de Pescadores de Cangas del Morrazo (ESP).

Dña. Martha Alicia Perera. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.

D. José Manuel Moreno. Centro IFAPA Alameda del Obispo, Córdoba, España

D. José Luis Varela. Universidad de Cádiz, España.

D. Daniel Acosta. Jefe del Servicio de Ordenación de Recursos Pesqueros y Acuícolas,
Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente, Junta de Andalucía.

D. Carlos Montero. Técnico de Pesquerías para España y Portugal de Pesca Sostenible
Certificada MSC.

D. César Lodeiros. Coordinador Científico de la Universidad de Oriente, Venezuela.

D. Alejandro Guerra. Director del CIMA, Xunta de Galicia, España.

D. Alejandro Pérez-Matus. Universidad de Valparaíso, Chile.

Plan de pesca de la navaja (*Ensis arcuatus*, Jeffreys) Cofradía de Cangas: ejemplo de autorregulación de un recurso sostenible

Lorenzo García J.L., Barreiro Rios M.B.

Cofradía de Pescadores “San Xosé” de Cangas, Puerto pesquero, 36940 Cangas, Pontevedra, España.

colondecangas@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El 13 de marzo de 1997 se constituye la agrupación de mariscadores de navaja y longueirón, modalidad de buceo en apnea. Ese mismo año se elabora el reglamento de Regimen Interior de la agrupación que es aprobado por la Xunta de Galicia en el año 1999. En este documento están redactados los deberes, tipo de infracciones y sobre todo los objetivos de la agrupación. El más importante de estos objetivos es el de gestionar de forma sostenible el recurso para lo cual se establecen:

- ❖ Topes de captura máximos por mariscador y día para las dos especies explotadas.
- ❖ Planes de comercialización. Adaptar la extracción del producto según la demanda del mercado.
- ❖ Promover el plan de explotación para cada campaña. Este plan está elaborado por la asistencia técnica y es aprobado por la agrupación y presentado en la administración antes del 1 de noviembre. En dicho documento están reflejados: el número de buceadores, topes de captura máximos para cada especie, calendario rotación de bancos que se van a trabajar y sobre todo el control de la extracción.

- ❖ Favorecer una mayor profesionalización del sector por medio de formación.

Esta agrupación de 25 mariscadores, está formada por un presidente y cinco vocales elegidos entre todos los socios de la agrupación. Estos son los encargados de decidir:

- ❖ Zonas de trabajo.
- ❖ Topes de captura cada día.
- ❖ Turnos de vigilancia. Las zonas de trabajo están vigiladas todos los días del año por los mariscadores.
- ❖ Organización del punto de Control. En la zona de trabajo se encuentra una embarcación de vigilancia con un guardapesca que es el encargado de revisar las embarcaciones y la mercancía, pesando y anotando en una planilla, el peso de la captura de cada buceador y precintando la mercancía. Esta mercancía es llevada por cada mariscador a la lonja donde se vuelve a pesar y se le quita el precinto para colocar el recurso en las bandejas adecuadas para su posterior comercialización. La lancha de vigilancia se localiza en todo momento en la zona de trabajo de los buceadores y es la encargada de apoyar las labores de vigilancia del recurso y sobre todo de velar por la seguridad de los mismos.



PLAN DE EXPLOTACIÓN NAYAJA

El plan comenzó en 1996, estaba formado por 25 buceadores que trabajaban en apnea, en este primer año fue un plan experimental durante el cual se adquirió la experiencia profesional y un mayor conocimiento del recurso.

Las especies que se permite extraer son la navaja y el longueiron. Navaja: *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865), Longueiron: *Ensis siliqua* (Linneo, 1758).



GENERALIDADES

Los solenidos son alargados y aplanados lateralmente. Al igual que en los demás bivalvos, la concha está formada por láminas calcáreas superpuestas segregadas por el manto. En la parte anterior se encuentra el ligamento, que es externo y alargado. Inmediatamente por debajo está la charnela donde están los dientes cardinales y los laterales (si los presenta) que encajan con los de la otra valva y son un carácter taxonómico. El manto está constituido por una lámina fina de tejido constituido por dos epitelios, uno interno y otro externo, los cuales se encuentran sellados dejando únicamente tres aperturas que comunican con el exterior: sifón inhalante, sifón exhalante (estos sirven como indicadores de su presencia a los buceadores) y apertura anterior para la salida del pie, que es muy grande y musculado y está adaptado para la excavación. Es un órgano fundamental en su anatomía, ya que les permite descender rápidamente en profundidad.



Sifones de navaja

HÁBITAT

Viven enterrados verticalmente en fondos de arena fina o fangosa a partir de los primeros metros del infralitoral hasta aproximadamente 80 metros de profundidad en el caso de la navaja y 20 metros en el caso del longueirón, pero generalmente vive en el interior de las rías.

DISTRIBUCIÓN

La distribución en nuestra área de explotación corresponde con las playas de Rodas y San Martiño ubicadas en el parque nacional de las islas Cíes y Liméns, Barra, Rodeira donde se extrae navaja y las playas de Barra, Nerga, Rodeira donde se extrae longueiron.



BIOLOGÍA

La reproducción de esta especie es un proceso cíclico anual. La fecundación es externa.

El ciclo gametogénico de *Ensis arcuatus* manifiesta la paralización de la gametogénesis durante los meses de verano, cuando la temperatura del agua superficial alcanza sus valores máximos. En esta época se suceden fenómenos de afloramiento en la Ría de Vigo, coincidiendo además con las épocas en las que los tiempos de iluminación son mayores y se dan los *blooms* de fitoplancton en el agua.

El desarrollo de la gónada y la gametogénesis tiene lugar en el otoño, con el enfriamiento de las aguas, el cese de los afloramientos y la disminución de la clorofila *a*. Las sucesivas puestas tienen lugar entre el invierno y el comienzo de la primavera, finalizan coincidiendo con el calentamiento del agua y el primer episodio de afloramiento (Darriba, 2001)

La estrategia reproductiva de *Ensis arcuatus* es de tipo “conservativa”: acumula reservas energéticas en forma de triglicéridos y glucógeno en la glándula digestiva y los tejidos musculares durante los meses de verano-otoño. Posteriormente moviliza estas reservas cuando inicia la actividad gametogénica durante el otoño-invierno. (Darriba, 2001)

En comparación, *Ensis siliqua* presenta un único episodio de puesta entre finales de mayo – julio.

Los datos de crecimiento estudiado mediante análisis de semilla obtenida indican que *Ensis arcuatus* tarda dos años en adquirir su tamaño comercial. (Darriba, 2001).

SEGUIMIENTO DEL PLAN

El plan comienza en 1996, la extracción se realizó durante los meses de julio a octubre. El total de quilos que se vendieron fueron sobre 9.000. En este año en toda Galicia existían 14 cofradías que comenzaron con el plan de extracción de navaja, hoy en día existen 22 cofradías y un total de 510 buceadores, además hay que tener en cuenta los planes de explotación a pie que extraen el longueiron y la navaja cuando hay mareas grandes.

En el año 2008 se modifica la normativa existente hasta la fecha en la comunidad gallega que regulaba el buceo en apnea, decreto 152/1998. En toda la comunidad se pasa de la recolección del recurso en apnea a poder ser extraída mediante equipo de buceo autónomo.



Este cambio de método de extracción favoreció una mayor captura de navaja en el resto de las entidades y la aparición de nuevos planes. Así queda reflejado en la gráfica el aumento de quilos extraídos a lo largo de los años en toda Galicia y lo que representa la cofradía de Cangas del volumen total de los quilos vendidos.

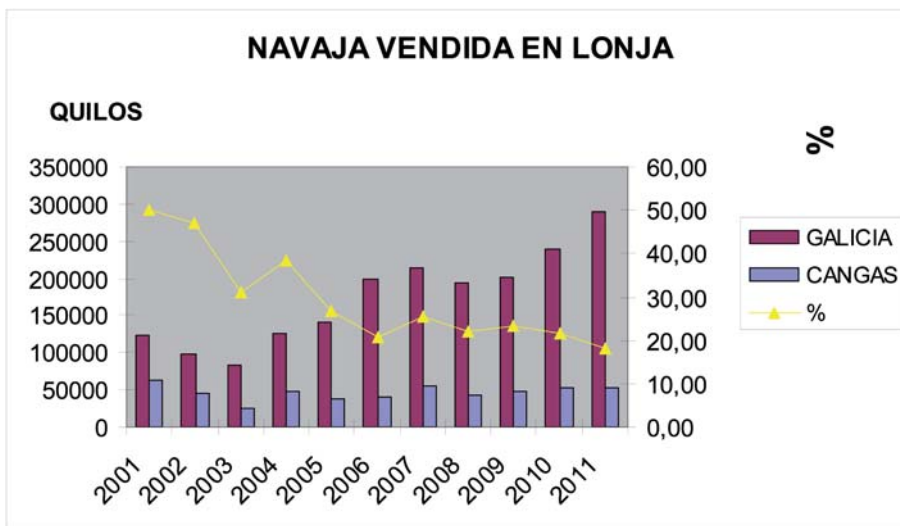


Figura 1.- Evolución de la venta de navaja en las lonjas de Galicia en comparación con la Cofradía de Cangas desde el año 2001-2011.

La buena gestión de los recursos es uno de los temas más importantes a tener en cuenta en este plan, por ello la importancia de la toma de decisiones de la comisión de la agrupación de mariscadores de navaja. En las figuras 2 y 3 quedan reflejados, la continuidad de los quilos vendidos y de los precios medios adquiridos en la lonja de Cangas a lo largo de los años. Lo

que hace que este plan sea viable para el mantenimiento tanto del recurso como del puesto de trabajo de los propios mariscadores.

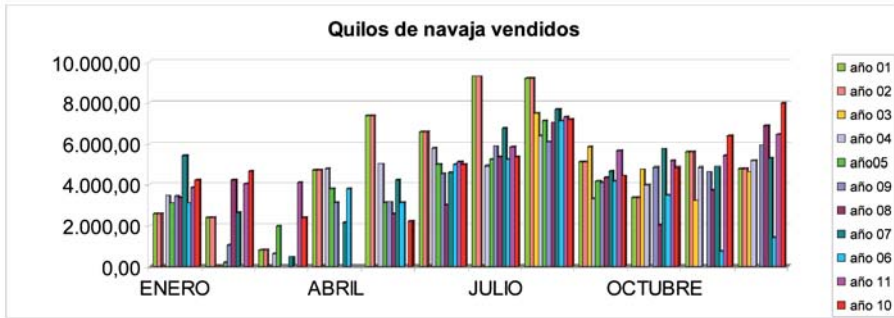


Figura 2.- Evolución mensual de ventas en la lonja de Cangas desde el año 2001-2010.

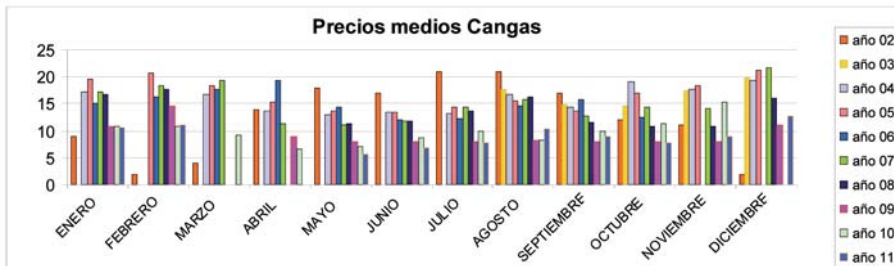
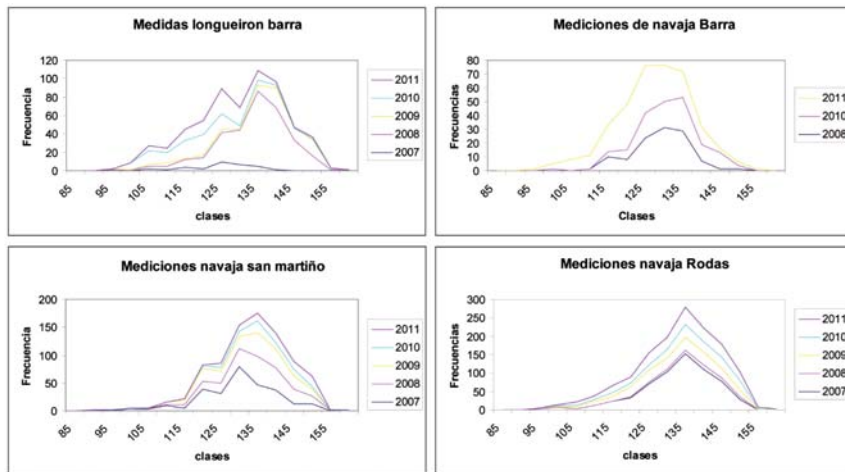


Figura 3.- Evolución mensual de precios medios en la lonja de Cangas desde el año 2002-2011

Esta gestión sustentable se refleja en las tallas medidas en lonja de los productos que extraen en los principales bancos. Durante todo el año se realizan mediciones de talla una vez al mes como mínimo. La talla legal de estos dos recursos es de 10 mm, con lo cual no deberían aparecer individuos de menor tamaño en la lonja para su comercialización.

Además de todas estas medidas para mejorar el rendimiento de la producción y la posibilidad de mantener un oficio a lo largo del tiempo, el colectivo de recolectores está colaborando en muchos proyectos que tienen que ver con la biología y la dinámica de población de las dos especies explotadas.



En el año 2001 se comienza con la colaboración con el Centro de Investigaciones Marinas de Corón en la tesis de Susana Darriba Couñago enviando muestras de navajas del Parque Nacional de las Islas Atlánticas de Galicia. Además durante años se enviaron muestras de longueiron para el estudio de todo su ciclo reproductor al Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo. Se participó en la Tesis doctoral de Fiz da Costa González “Optimización de cultivo en criadero de navaja (*Ensis arcuatus*, Jeffreys) longueirón (*Ensis siliqua* Linneo, 1758) y longueirón vello (*Solen marginatus* Pennant, 1777): composición bioquímica y de ácidos grasos en los desarrollos larvarios”. Desde el año 2010 se está colaborando en los proyectos “Dinámica de Poblaciones y gestión productiva de los bancos naturales de longueiron (*Ensis siliqua* Linneo, 1758)” y “Dinámica de Poblaciones y gestión productiva de los bancos naturales de navaja (*Ensis arcuatus*, Jeffreys)”.

En el transcurso de los años 2010 al 2012 se incluyeron dentro de los bancos nuevas zonas de extracción de menor dimensión: banco Masso- banco Punta Fanequeira.

Se realizaron labores de limpieza de algas participando con otros sectores de la pesca en los diferentes bancos de extracción. Se enviaron reproductores de navaja al Centro de Cultivo de Mariños de Ribadeo para producir semilla. Así el 28 de julio de 2011 se introdujeron en el banco de Rodeira 30.000 individuos de talla 6,8 a 23 mm.

Todas estas labores llevadas a cabo durante los 16 años que lleva en vigor este plan de explotación trajeron como consecuencia una estabilidad de trabajo para todo el sector de mariscadores de navaja y un mantenimiento del recurso.

Hoy en día el colectivo está estudiando nuevas vías de comercialización a través de una marca de calidad “navalladascies”.

BIBLIOGRAFÍA

Darriba Couñago, Susana (2001). Estudio de todo su ciclo reproductor al Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo

Da Costa Gonzalez, Fiz (2008). Optimización de cultivo en criadero de navaja (*Ensis arcuatus*, Jeffreys) longueirón (*E. siliqua* Linneo, 1758) y longueirón vello (*Solen marginatus* Pennánt, 1777).

Situación actual de la pesca artesanal del robalo *Centropomus undecimalis* en el sureste de México

Perera-García¹ M.A., Hernández-Gómez¹ R., Huerta-Ortiz³ M., Mendoza-Carranza² M., Contreras-Sánchez³ W.M.

¹ Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos s/n. Carretera Tenosique-Estapilla, km 1, Tenosique, Tabasco, México, C.P. 86901.

² El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Villahermosa. Centro, Tabasco, México. Carr. Villahermosa-Reforma s/n km 15.5, Ranchería Guineo 2a CP 86280.

³ Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5, C.P. 86039, Villahermosa, Tabasco, México
pereragarcia@hotmail.com

RESUMEN

La captura mensual total (kg) y el esfuerzo de pesca (número de viajes), fueron utilizados para evaluar el estado de explotación de las pesquerías costera y ribereña de robalo en Tabasco. La captura costera, evidenció una trayectoria descendente de 21.605 kg (1999) a 9.711 kg (2007). La captura ribereña mostró un patrón de oscilación, que impidió concluir si la trayectoria de la pesquería es ascendente o descendente, con una variación interanual entre 18,059 kg (2001) y 5.845 kg (2000). Ambas pesquerías fueron explotadas pertinentemente dentro de un rango de esfuerzo pesquero, menor a los óptimos estimados según los modelos de Schaefer y Fox. La magnitud de la captura extraída resultó mayor en la pesquería marina (a un nivel de esfuerzo mayor) en comparación con la ribereña, que invirtió un esfuerzo de pesca menor. En ambas zonas de estudio, la pesca se incrementó a niveles de esfuerzo y captura cercanos al crítico de explotación del recurso.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Tabasco, la pesca artesanal del robalo blanco *Centropomus undecimalis* y robalo prieto *Centropomus poeyi*, se realiza principalmente en la zona costera-marina, y en la cuenca Grijalva-Usumacinta y el río San Pedro-San Pablo (Espinoza-Pérez y Daza-Zepeda, 2005). Las mayores capturas se efectúan cuando se lleva a cabo el periodo máximo reproductivo de las especies (Perera-García *et al.*, 2008). Caballero (2003) menciona que existe una tendencia negativa en las capturas de *C. undecimalis* y un incremento en el esfuerzo pesquero, por consecuencia la CPUE va a la baja en los estados de Veracruz, Tabasco y Campeche, los cuales forman parte del Golfo de México. Actualmente, no se tiene un reconocimiento de la efectividad del sistema de vedas temporales sobre la producción de *C. undecimalis* y *C. poeyi* en el estado de Tabasco.

La primera evaluación para esta pesquería artesanal, se presenta en este documento, con el objeto de proporcionar información relevante acerca de su manejo histórico de explotación; y para ofrecer un punto de referencia mediante la aplicación de los modelos de equilibrio de producción excedente: el modelo de Schaefer (1954) y el de Fox (1970), que permita la comparación entre futuras evaluaciones.

Debido a que la pesquería de *C. poeyi* es temporal a razón que la captura solo se realiza de octubre a enero los datos obtenidos fueron incipientes para el análisis, de la zona costera y ribereña de Tabasco, por lo que, se continua con la obtención de datos. En este trabajo se analiza el estado de explotación de las poblaciones de *C. undecimalis*, en la zona costera y ribereña de Tabasco, con base en el efecto que tuvieron entre 1996, 1998 a 2009, años de pesca, sobre la variación anual de la abundancia de esta especie.

MÉTODOS

La información utilizada en este trabajo fue la captura mensual total de robalo blanco (Ci, en ton) y el esfuerzo de pesca (fi, en número de viajes); ambos, fueron disponibles de la pesquería costera (de 1999 a 2007) y ribereña (1996, 1998-2001; 2003-2009). La Ci ribereña para los años 1997 y 2002, no estuvieron disponible. Esta información estadística fue obtenida de las bitácoras de arribo de las cooperativas establecidas en Barra San Pedro y San Pedro, Balancán (17°46'N y 91°09'W).

Los modelos de Schaefer (1954) y Fox (1970) fueron utilizados para obtener, sobre una base anual, la evaluación histórica de las pesquerías costera y ribereña de *C. undecimalis* en Tabasco, México. Fueron estimados los niveles óptimos de captura (C_{OPT}) y el esfuerzo de pesca (f_{OPT}). La captura total (C_i) y el esfuerzo de pesca (f_i) de ambas pesquerías fueron correlacionadas de manera múltiple. La variación anual de la captura mensual total se representó mediante series de tiempo (Cervantes-Hernández, 2008).

A cada serie se le aplicó el modelo de descomposición espectral de Kendall (1984), para obtener, en cada caso, la componente espectral cíclica (C). La componente C se utilizó para transformar la variación anual de la captura (Cervantes-Hernández, 2008). Se preponderó con mayor exactitud, independientemente de la magnitud, los meses de ocurrencia y el tiempo que transcurre entre los máximos y mínimos de la abundancia de *C. undecimalis* en ambas zonas de estudio.

RESULTADOS

En la pesquería costera (Fig. 1a), los registros de la C_i evidenciaron una trayectoria descendente de 1999 (21.605 kg) a 2007 (9.711 kg), entre 50 y 150 viajes, sin embargo, el 99% de los registros de la C_i , fueron observados entre 50 y 72 viajes (excepto 2004 con 150 viajes), dichas estimaciones, fueron observadas por debajo de los valores propuestos para f_{OPT} (Tabla I). La correlación entre la C_i y el f_i marino resultó inversamente proporcional ($R=0.07$, $p=0.856$).

De acuerdo con los modelos utilizados, el 66% de los registros de la C_i marina, fueron observados en la zona de menor riesgo de explotación (Fig. 1a), a la izquierda de los valores propuestos de C_{OPT} (Tabla I). Durante el periodo 2004-2006, el 34% de la C_i marina fue observada en la zona de mayor riesgo de explotación (Fig. 1a), a la derecha de los valores propuestos de C_{OPT} (Tabla I).

Los registros de la C_i ribereña, evidenciaron un patrón de oscilación no consistente, que impidió inferir acerca de una trayectoria ascendente o descendente; sin embargo, los cambios de magnitud de ésta fueron observados entre 13 y 30 viajes, con 18.059 kg máximo (2001) y 5.845 kg mínimo (2000) (Fig. 1b). De acuerdo con los modelos utilizados, el 100% de la C_i ribereña, fueron observados en la zona de menor riesgo de explotación (Fig. 1b), a la izquierda de los valores propuestos de C_{OPT} (Tabla I). La correlación entre la C_i y el f_i ribereño resultó directamente proporcional ($R=0.292$, $p=0.411$).

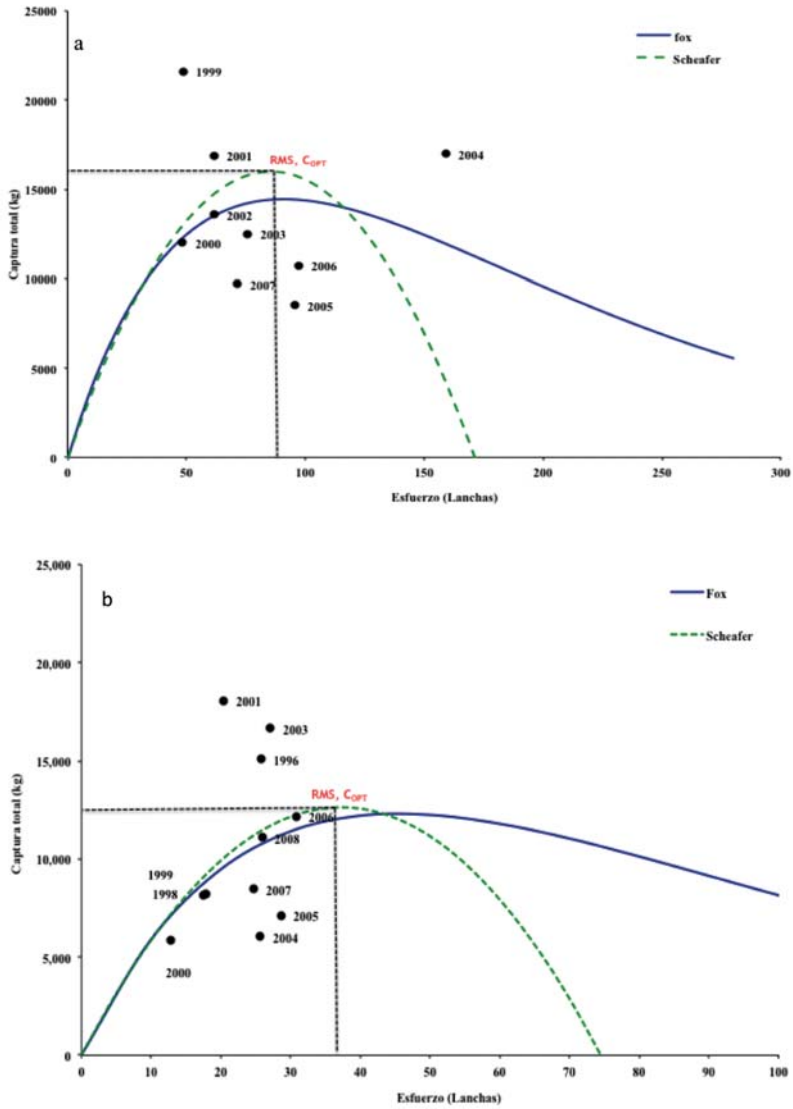


Figura 1.- Variación interanual de la captura total costera (a) y ribereña (b) de robalo blanco (*C. undecimalis*) en relación a los ajustes de evaluación de Schaefer (---) y Fox (—).

Tabla I.- Estimadores de evaluación recomendados para las pesquerías marina (de 1999 a 2007) y ribereña (de 1992 a 2002), nivel óptimo de captura (C_{OPT}), esfuerzo de pesca óptimo (f_{OPT}), determinación (R^2), nivel de probabilidad (p).

Pesquería Marina	COPT kg	fOPT viajes	R2	p
Schaefer	15.990	86	0,4457	0,049
Fox	14.441	91	0,5470	0,022
Pesquería ribereña	COPT kg	fOPT viajes	R2	p
Schaefer	12.634	37	0,074	0,416
Fox	12.302	45	0,102	0,336

Se observaron correlaciones significativas entre la captura anual total y el número de viajes para un mismo tipo de pesquería ($p < 0.05$). La captura anual total y el número de viajes entre diferentes pesquerías mostró una correlación inversa y no significativa ($p > 0.05$) (Tabla II). Sin embargo, en este caso se observó de manera preliminar, que al descender ambos tipos de f_i , las diferentes clases de la C_i ascendieron. Entre las variables (C_i costera- C_i ribereña) y (f_i costero- f_i ribereño), la correlación no fue significativa ($p > 0.05$).

Tabla II.- Matriz de correlación múltiple para las pesquerías marina y ribereña de robalo en el estado de Tabasco, periodo 2003-2007; captura anual total (C_i) y esfuerzo de pesca (f_i), nivel de probabilidad (p).

	C_i costera	f_i costera	C_i ribereña	f_i ribereña
C_i costera	1			
f_i costera	0,7916 p=0,111	1		
C_i ribereña	-0,095 p=0,878	-0,567 p=0,319	1	
f_i ribereña	-0,347 p=0,567	-0,096 p=878	0,308 p=614	1

Con base a la componente espectral cíclica, se observó que ambos tipos de captura presentan un rango de variación de agosto a julio con máximos en octubre (C_i ribereña) y noviembre (C_i marina), este ciclo fue repetitivo interanualmente (Fig. 2). Lo anterior sugiere que la C_i ribereña se incrementa inicialmente y un mes después, este incremento repercutió

positivamente en la Ci marina; el mismo proceso, pero con un efecto negativo se visualizó durante los meses de descenso (Fig. 2). La alternancia de los episodios positivos y negativos observados a través de la componente, fueron probablemente los responsables del valor de correlación obtenido en el intervalo 2003-2007.

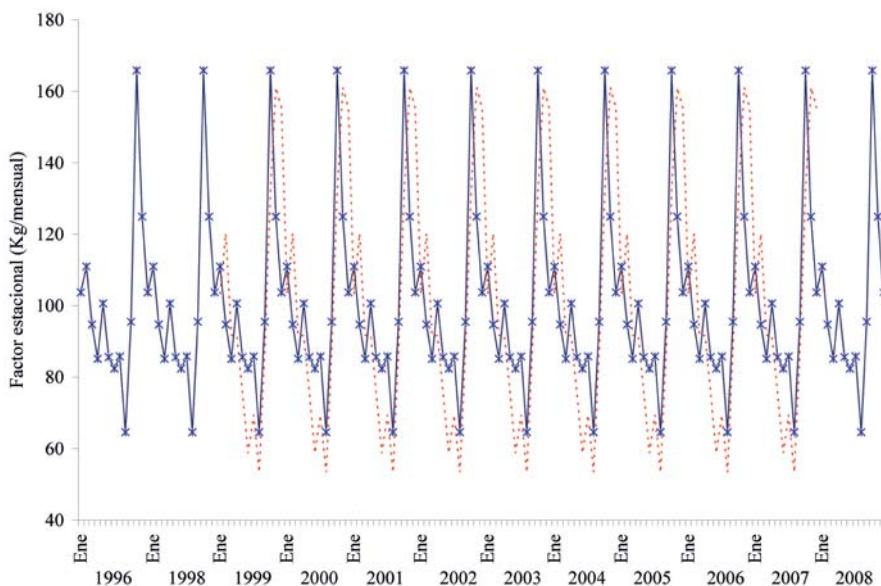


Figura 2.- Variación interanual de las componentes ciclo marina (línea punteada) y ribereña (línea continua) de robalo en el estado de Tabasco, periodos (de 1999 a 2007) y ribereña (1996, 1998-2000, 2001, 2003-2008), respectivamente.

DISCUSIÓN

Debido a los supuestos de los modelos, la calidad de los datos y características de la especie, se recomienda actualizar la información sobre una base anual los valores óptimos de captura y esfuerzo, si la finalidad es utilizarlos como criterio para la evaluación y manejo del recurso (Gracia, 1997). El sistema de los avisos de arribo asume que los pescadores reportan la información de manera oportuna y completa, sin embargo diversos autores mencionan que es una práctica habitual por parte de los pescadores no registrar toda su captura, lo que

conlleva a ponderar el esfuerzo partiendo de la suposición de que un aviso de arribo equivale a un viaje de pesca (Del Monte-Luna *et al.*, 2001). De tal forma, se debe recurrir a cualquier información disponible y es donde se aprecia en su justa medida el empleo de los aviso de arribo (Muhlia *et al.*, 1994; Morales-Bojórquez *et al.*, 2001). En este estudio, la evaluación es validada por las características propias de las operaciones de flota costera y ribereña, las cuales implican jornadas entre 8 a 12 h diarias y los reportes se realizan el mismo día del desembarque, de manera que la magnitud del esfuerzo no depende del tiempo de operación del arte de pesca (que es constante), sino del número de viajes que se hacen para conseguir el recurso (Ramos-Cruz *et al.*, 1996; Perera-García *et al.*, 2008).

Se ha mencionado que para desarrollar el modelo de Schaefer en cualquier versión, es necesario cumplir el supuesto de que la pesquería se encuentre en estado de equilibrio o no (Schnute, 1977; Hilborn y Walters, 1992, Terrence y Deriso, 1999). Debido a la aparente violación de los supuestos y a la simplicidad del modelo, Maunder (2003) estableció que éste debería ser descartado como herramienta de evaluación pesquera. Sin embargo, Williams y Prager (2002) replantearon los supuestos del esquema de Schaefer, e indicaron que las diferentes versiones del mismo han considerado conjuntamente el estado de equilibrio y no equilibrio; por lo que resulta innecesario, corroborar dichos supuestos antes de su aplicación. Chien-Hsiung (2004) confirmó lo antes expuesto, e indicó, que el modelo es una de las herramientas más poderosas en el análisis y el manejo de las pesquerías; que pueden tomarse decisiones con un enfoque netamente precautorio para la administración de una pesquería.

CONCLUSIÓN

Sin duda, la evaluación como el manejo de los recursos pesqueros son procesos dinámicos que deben adaptarse a las condiciones cambiantes y a los nuevos conocimientos para conocer lo suficientemente el recurso para establecer un régimen de administración efectivo. La conservación y el manejo deben darse sobre la base de la mejor información científica, para reducir la sobrepesca de crecimiento y el impacto sobre el potencial reproductivo, con el fin de detener o revertir la tendencia negativa observada para *C. undecimalis*.

BIBLIOGRAFÍA

Caballero, C.V. 2003. Estudio biológico pesquero del robalo *Centropomus undecimalis* en

- el Suroeste de Campeche. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, pp. 71.
- Cervantes-Hernández, M.I., Gallardo-Berumen, S., Ramos-Cruz, M.A., Gómez-Ponce, A. y Gracia, G. 2008. Análisis de las temporadas de veda en la explotación marina de camarones del Golfo de Tehuantepec, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(2): 285-294.
- Chien-Hsiung, W. 2004. Improvement of the Schaefer model and its application. In: 17th Meeting of the starding committee on tuna and billfish. Institute of Oceanography National Taiwan University, Tapei, Taiwan, 1-11 pp.
- Del Monte-Luna, P., Guzmán-Jiménez, G., Moncayo-Estrada, R., Sánchez-González, S. y Ayala-Cortés, A. 2001. Máximo rendimiento sostenible y esfuerzo óptimo de pesca del huachinango (*Lutjanus peru*) en la Cruz Huanacastle, Nayarit, México. *Ciencia Pesquera* (14):159-164
- Espinoza-Pérez, H. y Daza Zepeda, A. 2005. Peces. Cap. 10:225-240. En: Álvarez, J.F. & Santiago, S. (eds.). Biodiversidad del Estado de Tabasco. Instituto de Biología. UNAM-CONABIO. México. pp. 386.
- Gracia, A. 1997. Pesquería artesanal del camarón. En: Flores-Hernández, D., Sánchez-Gil, P., Seijo, J. C. y A. Arreguín-Sánchez. (eds.) Análisis y diagnóstico de los recursos pesqueros críticos del Golfo de México. Universidad Autónoma de Campeche, Campeche. pp.173.
- Hilborn, R. and C. J. Walter. 1992. Quantitative fisheries stock assessment. Choice, dynamics and uncertainty. Chapman & Hall, New York, pp. 550.
- Kendall, M. G. 1984. Time series. Oxford University Press, New York, pp. 542.
- Maunder, M. N. 2003. Is it time to discard the Schaefer model from the stock assessment scientis's toolbox?. *Fisheries Research* 61:145-149.
- Morales-Bojórquez, E., López-Martínez, J. and Hernández-Vázquez, S. 2001. Dynamic Match-Effort Model For Browns *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes) Forms Gulf of California. México. *Ciencias Marinas* 27(1): 105-124.
- Muhlia, A., Martínez, J.A., Rodríguez, J., Guerrero, D. y Gutiérrez, F. 1994. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de robalo. Secretaría de Pesca, México, pp. 65.
- Perera-García, M.A., Mendoza-Carranza, M. y Páramo-Delgadillo. S. 2008. Dinámica reproductiva y poblacional del robalo *Centropomus undecimalis*, en Barra San Pedro, Centla, México. *Universidad y Ciencia* 24(1): 49-59.
- Ramos-Cruz, S., Sánchez-Meraz, B., Carrasco-Ayuso, F. y Cervantes-Hernández, P. 2006. Estimación de la tasa de mortalidad natural de *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900) y *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) en la zona costera de Golfo

de Tehuantepec, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41(2): 221-229.

Schnute, J. 1977. Improved estimates from the Schaefer production model: theoretical considerations. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 34:583-603.

Terrence, J. Q. and R. B. Deriso. 1999. Quantitative fish dynamics. Oxford University Press, pp. 542.

Williams, E. H. and H. Prager. 2002. Comparison of equilibrium and non-equilibrium estimators for the generalized production model. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1533-1552.

La ostra perla *Pinctada imbricata* en Nueva Cádiz de Cubagua: pasado, presente y futuro

Lodeiros Seijo¹ C., Prieto² A.

¹Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela

²Dpto. Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela
cesarlodeirosseijo@yahoo.es

RESUMEN

En tiempos prehistóricos, la ostra perla *Pinctada imbricata* ya era fuente de alimento para el hombre americano, y en épocas precolombinas hay evidencias de su uso ornamental. Tras el descubrimiento del nuevo mundo, con los viajes andaluces, en particular del navegante Pedro Alonso Niño, se originó un gran interés por la explotación de perlas en las costas de Venezuela, lo cual generó la fundación de la ciudad “Nueva Cádiz” en la actual isla de Cubagua, la verdadera isla de las perlas. La pesquería desmesurada conllevó a la primera actividad de sobrexplotación pesquera en el continente americano. Dicha pesquería fue tan fructífera que sirvió de financiamiento para las nuevas exploraciones en América. Por estimaciones del quito real desde 1515 a 1541, la extracción de perlas supuso 11.325 Kg (equivalente a una biomasa 1,4 millones de t). Al desaparecer por sobrexplotación los bancos naturales sobre 1540, desaparece la ciudad de Nueva Cádiz, por ser las perlas el único interés para subsistir. Nuevos bancos son descubiertos y los pobladores de Nueva Cádiz migran con sus enseres y fuerza laboral, principalmente a Cabo de la Vela, en la Guajira colombiana. En el transcurrir de los siglos, y el agotamiento de los bancos de Cabo de Vela, existe la recuperación y el descubrimiento de nuevos bancos de ostra perla en el nororiente de Venezuela, que genera una nueva actividad pesquera, incorporándose artes y esfuerzos pesqueros bajo cierta organización, más sin embargo, la pesca de perlas entra en alti-bajos, generados por sobrexplotación y fenómenos de desplazamiento ecológico por la especie *Arca zebra*. Aún hasta

la mitad del siglo pasado, el interés por *Pinctada imbricata*, fue sus perlas, perdido luego, debido a la tecnificación de la producción de perlas por acuicultura, cuando el interés diverge hacia el consumo humano, siendo hoy día un producto de elevada calidad nutricional y gastronómica. En el presente siglo, se inician estudios con técnicas de producción en Hatchery con fines de repoblamiento y producción, considerándose como una especie que contribuiría a la seguridad alimentaria del Caribe.

LA OSTRA PERLA DE LA CUBAGUA PREHISTÓRICA Y PREHISPÁNICA

Los hallazgos de un mastodonte asociado a utensilios de caza en excavaciones en Taima-Taima, edo. Falcón, dirigidos por uno de los más importantes y reconocidos arqueólogos en Venezuela, el español José María Cruxent, quien fue uno de los primeros proponentes de la “teoría” del poblamiento temprano de América (hace de 22 a 65.000 años), a través de los grupos humanos conocidos con el nombre de Paleoindios o cazadores y recolectores especializados, determinan que los primeros pobladores del territorio venezolano ocurrieron hace unos 12-16.000 años, lo cual contribuyó a un cambio y aceptación en las teorías sobre la antigüedad de la presencia del hombre en Sudamérica. La subsistencia de estos grupos de cazadores-recolectores y de otros de otras latitudes, estuvo condicionada a la presencia de una Megafauna (organismos que excedían de 1.000 kg) como mastodontes similares al mamut, megaterios o perezas gigantes, gliptodontes o cachicamos, entre otros (Suarez y Bethancour 1994).

Sin embargo, a consecuencia de los profundos cambios geoclimáticos ocurridos para esas épocas, hace unos 10.000 años en las costas occidentales de Venezuela se comenzaron a sentir los efectos del deshielo en el hemisferio norte, la temperatura se hizo más cálida y subió el nivel del mar, y la fauna fue extinguiéndose, por lo que se produce, entonces, una transformación sustancial en los hábitos alimentarios de tales poblaciones, obligándolas a continuar migrando y garantizar su existencia mediante el aprovechamiento de la fauna marina. Las poblaciones aborígenes que ocuparon la región litoral de las costas de Venezuela en épocas precolombinas se concentraron en el noroeste, en las costas del edo. Falcón, y el noreste en las de Araya, Golfo de Cariaco y Paria en el edo. Sucre, hace unos 5-8.000 años, y luego hacia la región de islas que hoy constituyen el edo. Nueva Esparta como Margarita, Coche y Cubagua (Suarez y Bethancour 1994, Malavé y Ramírez 2001)

Los grupos recolectores marinos de Araya, establecidos hace de 3-5.000 años, tuvieron características distintivas de los demás grupos, eran experimentados en el arte de la navegación, conocían los vientos y corrientes, y se alejaban en excursiones frecuentes hacia las islas vecinas (Malavé y Ramírez 2001). Fue así como estos recolectores, un poco más tecnificados

en el uso del mar, pudieron llegar a Cubagua, hace unos 4.000 años, para colonizarla y luego hacer actividades de comercio-trueque entre asentamientos (Suarez y Bethancour, 1994). Para esa época, hay evidencias que hubo una transgresión marina que permitió que el agua subterránea subiera de nivel, con el consecuente afloramiento de pozos y manantiales de agua dulce, favoreciendo el asentamiento humano por los recolectores de Araya (Sanoja y Vargas, 1995). La pesca constituía la actividad extractiva de subsistencia, donde la Ostra Perla *Pinctada imbricata* suponía un importante rubro.

La importante agrupación humana de hace 4000 años en la Península de Araya y Cubagua poseía una identidad cultural propia *Tradición Manicuaire*, la cual se caracterizó por una tendencia muy pronunciada al nomadismo marino y a la navegación de altamar... De allí, el aprovechamiento de esta habilidad por parte de los españoles para su utilización en la explotación perlífera, 5,5 milenios más tarde.

Ya, en la propia Cubagua de aquel entonces, habían vestigios, de la utilidad de las perlas provenientes de la especie *Pinctada imbricata* como ornamento indígena, como cuentas y colgantes de conchas, perlas horadadas al estilo aborigen, entre otros (Cruxent y Rouse, 1961), utilizadas no solo por los indígenas de Cubagua sino por muchas de otras poblaciones de las costas venezolanas, de las cuales en un principio de la conquista, a manera de truke con los hipánicos, se intercambiaron por utensilios y herramientas más modernizadas, actividad que se discutirá más adelante.

La abundante diversidad de productos marinos existentes en su ámbito, así como la relativa estabilidad temporal de los mismos, asociado al incipiente desarrollo de la actividad agraria, permitió en la región insular nororiental de Venezuela pequeños asentamientos por los recolectores especializados de Araya, con un proceso de sedentarización, dependiente del grado en los niveles de explotación de los recursos y los factores que condicionaban a dicho asentamientos, entre los cuales se encontraba en primer orden el agua dulce, lo cual condicionaba la emigración en el periodo neolítico (1000-1500 AC). Todas estas aseveraciones se basan en estudios de excavaciones en varias localidades de la costa y tierras cercanas a las costas de Venezuela, donde se evidencian acumulaciones de exoesqueletos o concheros ligados a utensilios humanos. En el oriente, una de las especies que mayormente recolectaban los indígenas fue el gasterópodo o caracol largo *Melongena melongena*, al cual hábilmente le producían una abertura en su concha para fácilmente extraer su vianda; en otros concheros fácilmente distinguibles por la mayor acumulación de conchas con nácar, predominaba la especie *Pinctada imbricata*, la cual, era extraída para la obtención de perlas (sin excluir su posibilidad de usarla para alimento), las cuales utilizaban para ornamentación (Lodeiros *et al.*, 2011). De esta manera, los nativos podrían tener colecciones para el uso personal o para decorar sus templos, sin precisar de ellas como símbolo de extrema posición y extravagancia,

ya que para las poblaciones prehispánicas la posesión de perlas no suponían un sentimiento de codicia (Glatsoff, 1950); esta actividad, sin duda alguna, tuvo que ser atractiva para los descubridores del nuevo mundo.

LA OSTRA PERLA DE NUEVA CÁDIZ DE CUBAGUA

Según los registros históricos por la historiografía tradicional, el conocimiento de la riqueza perlera en las costas del Nuevo Mundo ocurrió a los primeros días del mes de agosto de 1498, cuando Cristóbal Colón, después de pasar por la desembocadura del río Orinoco, tocó las costas de Paria en su tercer viaje, sorprendiéndose, según los relatos de su hijo Hernando, de tantas riquezas en los cuellos y brazos de las indias de la región, llenos de *thenocas* o *coxisas*, como los indígenas denominaban a las perlas....

Llegué a un lugar donde me parecía que las tierras estuviesen labradas-refiriéndose a Macuro, en la costa septentrional occidental del Golfo de Paria.....vinieron a la nao infinitésimos en canoas, y muchos traían piezas de oro al pescuezo y algunos atadas a sus brazos algunas perlas: holgué mucho cuando las vi y procuré mucho de saber donde las hallaban, y me dijeron de allí, de la parte del Norte de aquella tierra... hacia la Península de Araya y el Mar Caribe, precisamente hacia Cubagua.

Este relato, indudablemente nos indica que Colón, prestó más atención al recurso marino perlero que el minero, como el oro, el metal más codiciado en nuestro planeta que ha generado infinitas historias de colonizaciones y migraciones. Con esta impresión, el propio Colón bautizó una vasta área como *Golfo de las Perlas* (Otte, 1977). No cabe duda, que las perlas, y más aún la búsqueda del ámbito dónde tenían que criarse era objetivo principal de Colón, tal como se desprende de testimonios concretos en el Diario de Colón (Martín-Acosta, 2011). Ya en Cubagua el 14 de agosto, el almirante disimuló ante los naturales, su sorpresa por tan extraordinaria riqueza.

De regreso a España, la noticia del encuentro con Cubagua-la verdadera Isla de las Perlas, estimuló los próximos viajes, teniendo importancia los viajes andaluces o viajes menores, promovidos por la corona, con capitanes, tripulaciones, barcos y capitales andaluces... fue desde el Puerto de Santa María a unos pasos de Cádiz, que Alonso de Ojeda, Américo Vespucio y Juan de la Cosa en 1499 inició esos viajes con la intención de realizar el primer mapa de las costas de las tierras descubiertas, dando origen al nombre de hoy de Venezuela, y donde ya se conocía la existencia de un gran recurso marino, luego, tan solo dos semanas después, Pedro Alonso Niño y los hermanos Guerra partieron al oriente venezolano, aprovechando dicho

recurso y trayendo consigo, unos 50 kg de perlas extraídas, gran parte de ellas, de costas de esa isla que luego se convertiría en la ciudad de Nueva Cádiz en 1528, hoy la Isla de Cubagua en el oriente de Venezuela... Por otro lado, Vicente Yáñez Pinzón iniciaría los recorridos por la atlántica Suramérica, y que junto con otros sucesivos viajes (Diego de Lepe, Alonso Vélez de Mendoza y Luis Guerra, Rodrigo de Bastidas y Juan de la Cosa, entre otros), configuraron la magnitud del continente que España estaba explorando, dando inicio nuestra identidad como iberoamericanos.

LA EXPLOTACIÓN PERLERA EN NUEVA CÁDIZ DE CUBAGUA

El periodo de inicios del siglo XVI, fue sin duda de transición del establecimiento del trueque con los indios y posterior uso de los mismos para la búsqueda de perlas, generando una organización de exploración y explotación de perlas y humanos. Esta actividad produjo una riqueza tal que fue repartida, principalmente por el hoy continente europeo, siendo resguardo de reyes y reinas. Las perlas del oriente venezolano, particularmente de Cubagua, adornaban coronas, vestidos, joyas de reyes, príncipes, infantas, nobles, ricos comerciantes, imágenes religiosas, símbolos eclesiásticos, etc., teniendo un papel preponderante en las bancas, en los juegos, y en las actividades amorosas de Europa. También fue importante en la política imperial, usadas como obsequios a otros monarcas aliados de Carlos V y luego Felipe II entre 1521 y 1523 a los Reyes de Portugal.

Desde un comienzo, a los nativos les pareció algo natural el intercambio de perlas por los objetos hispánicos, de hecho el trueque era uno de los principios básicos del comercio por los indígenas americanos. Pedro Alonso Niño y Cristóbal Guerra intercambiaban agujas, herramientas de metal y espejos por perlas y oro, lo cual podría ser considerado como un gran engaño y estafa por parte de los ibéricos, pero si viajamos en el tiempo, la tecnología y artefactos posiblemente hasta rudimentarios y común para los europeos, era de elevado interés para los naturales y no tenían precio... poderse reflejar, en el momento que se quiera y donde se quiera con un espejo o bien modificar la tierra con herramientas perdurables, o bien introducirse fácilmente en el trance del alcohol de los vinos, eran acciones sobrevaloradas, y para los naturales era más que justo, provechoso el intercambio. De esta manera los naturales entregaron a los españoles las perlas que tenían, acumuladas de sus ancestros y luego comenzó la explotación para la búsqueda de ellas... una vez satisfecha esta apetencia, los *Guaiqueríes*, no entendían la desmedida ambición de los recién llegados y no se sentían atraídos ni obligados a continuar en las labores de buceo para la captura de la madre perla, actividades que eran impuestas por los hispánicos, a quienes consideraban inicialmente sus amigos.

Casi dos décadas después del viaje de Colón, en 1517, se estableció entonces, en la isla de Cubagua, un importante centro de extracción de la ostra perla, en función de satisfacer las demandas de la Corona de Castilla, dando origen a la ciudad de Nueva Cádiz de Cubagua (Fig. 1). Para las actividades de la extracción de ostras perlas en Cubagua se utilizaban a los indios, quienes tenían la experiencia de bucear y extraer las ostras con perlas. No obstante, ante las primeras negativas, y dado que los marineros españoles no podían realizar con eficiencia las labores extractivas, comenzaron los atropellos y amenazas. Muchos de los indígenas eran encadenados y obligados a bucear en las condiciones más depauperantes, bajando a 7-10 brazas (10-18 m) amarrándoles piedras de gran peso, para que no perdieran tiempo en la inmersión, en función de ser más eficaces en recolectar manualmente las ostras. Fueron años de terror, sufrimiento y esclavitud, solamente presenciado con ojos de misericordia, compasión y justicia por algunos de los primeros sacerdotes llegados de España, quienes propugnaban una penetración pacífica hacia la tierra del Nuevo Mundo, destacándose la personalidad y el heroísmo de Bartolomé de las Casas. Dice una leyenda indígena que:

...todos los viajeros que transitan por las aguas agitadas de Cubagua oyen todavía el eco y los lamentos de los indios mezclados con el ruido de sables, mosquetes y cadenas.

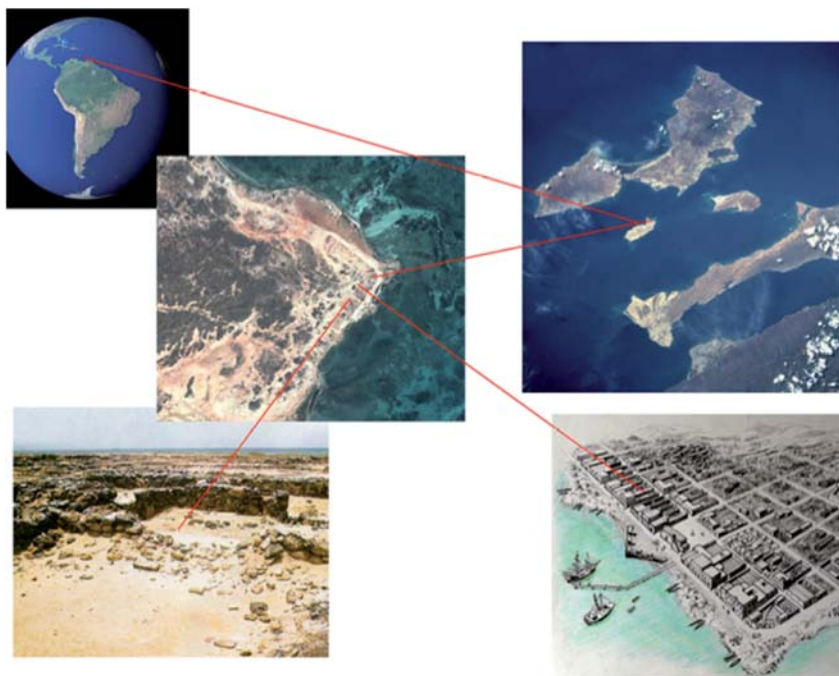


Figura 1.- Actuales ruinas de la ciudad e Nueva Cádiz en la Isla de Cubagua y su estructuración como ciudad en el siglo XVI.

La extracción y comercialización de perlas fue tan importante en Cubagua, que se instaló un gobierno local con recintos de atención pública, a manera de oficina de hacienda, gestionando licencias de explotación, con las cuales se vigilaba el pago de *el quinto del rey* (20% de toda riqueza metálica o en joyas que fuera obtenida en sus colonias) para los Reyes Católicos y el Sumo Pontífice por la autorización de explotar al nuevo continente como impuesto para los comerciantes y explotadores de las perlas de la Isla.

La explotación y producción de perlas fue exorbitante, lo cual, además de generar riqueza y pobreza en el trato humano, fue devastadora de la naturaleza, ya que la historia pesquera de los bancos del oriente y otras latitudes del Caribe donde se encontraban bancos de ostras, están caracterizadas de una hiperexplotación con consecuencias de agotamiento y desaparición, siendo los bancos de la ostra perla de Cubagua el primer recurso natural sobreexplotado de iberoamérica, y de igual manera al primero que se le concedió vedas. La isla de Cubagua, una isla de clima seco y desértico, difícil de vivir en aquellos tiempos del siglo XVI por la carencia de agua dulce y los recursos de sobrevivencia que ello implica, fue transformada en atracción de asentamiento de humano y ciudad, sólo soportado por el gran recurso marino, las perlas de la ostra *Pinctada imbricata*, por ello, el agotamiento de sus bancos hacia mediados del siglo XVI (ya en 1532 se había decretado una veda con la suspensión de la explotación perlífera), ya no pudo soportar económicamente las actividades sociales y de subsistencia de la ciudad. Lo poco que quedaba de esta ciudad, fue arrasada particularmente por fenómenos naturales como el terremoto y maremoto del 25 de diciembre de 1541, un ciclón en 1542, así como otro terremoto en 1543, lo que produjo que algunas casas se cayeran inundando las calles y arrastrando escombros al mar; los continuos ataques de piratas corsarios también contribuyeron a desalojar a la ciudad (Idyll, 1965). Algunos estudios de la sociohistoriología (Armas-Chitty, 1951) sostienen que la desaparición de Cubagua no fue debido a una destrucción violenta por la naturaleza, sino más bien paulatina, debido principalmente a la desaparición de los ostrales, que determinó el destino de la ciudad y generó la fase de su agonía, pero previo a ese proceso primero tuvo que transcurrir un tiempo para que los veteranos de Cubagua se dispersasen hacia Margarita, Coche y especialmente a la Guajira en Cavo de la Vela, lo cual se convirtió en una prolongación de Nueva Cádiz.

Teniendo en cuenta *el Quinto del Rey*, y relaciones de producción de kg ostras por perla (Fig. 2), hemos estimado la cuantificación del siglo XVI con la producción, en solo 27 años (entre 1515 y 1541) en 11.326,23 kg, equivalentes a 11.326.230 perlas de 1 g (5 quilates), lo cual supondría una explotación 45.304,92 millones de ostras, equivalente a 1,36 millones de toneladas (1 ostra con perla 30 g), lo que daría un promedio en los 27 años de 50.370,7 t/año. No obstante, si consideramos la producción anual sin promediar, tenemos que solo para el año 1527 se explotaron unas 1.600 kg perlas, es decir 6,4 millones de ostras, equivalente a unas 192.000 t, solo en el banco de Cubagua, lo cual supone una explotación elevadísima, unas 96

veces de la explotación “nacional” del banco de ostras de Cubagua en la actualidad (estimaciones de 2.000 t de ostras/año) y unas 25 veces más, si consideramos la media anual del siglo XVI. Para una idea de la elevada explotación, estos datos suponen por media anual y del año 1527, 5 y 25 veces mayor, respectivamente que la actual producción (estimada en 40.000 t/año) de la pepitona *Arca zebra*, el primer rubro de explotación artesanal en Venezuela.

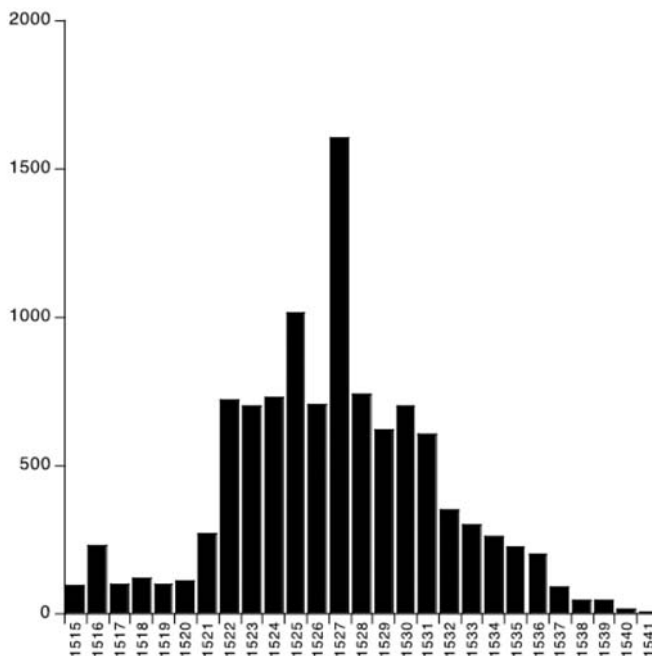


Figura 2.- Producción de perlas en kilogramos según estimación a partir del impuesto de la corona española, *el Quinto del Rey*, en el siglo XVI (período 1515-1541). Datos provenientes de Otte (1961).

Teniendo en cuenta que, al menos la mitad de las perlas podrían no haber sido declaradas a la corona (Benzoni 1565, Otte 1977), el valor podría ser, al menos, duplicado, obteniéndose 22.652,46 kg y por su puesto, la explotación total de ostras sería extremadamente elevada.

La cantidad de perlas extraídas de Cubagua, generaron tanta riqueza que con *el quinto del Rey* se sostenía gran parte de la corona española y permitía financiar no solo su desarrollo, sino gran parte la expansión del imperio español hacia la conquista de Iberoamérica y otras regiones, contribuyendo a establecer el primer imperio global del mundo, ya que antes del establecimiento de las minas de México y Perú, las perlas exportadas desde el nuevo mundo

bajo el control de los españoles excedían del valor de todas las exportaciones.

La extracción de perlas del siglo XVI, ha sido probablemente una actividad con un superávit no generado por ningún recurso natural renovable en toda la historia de Venezuela, y probablemente del mundo de aquel entonces.

EXPLOTACIÓN PERLERA EN EL SIGLO XVII, XVIII Y XIX

A finales de del siglo XVI y principios del siglo XVII, la producción perlífera no era tan relevante y la actividad pasó a ser marginal, practicada en forma poco organizada por empresarios al margen de la ley (Galtsoff 1950), en un principio, debido a la poca abundancia de ostras en los bancos, aunque tienen cabida otros factores como la resistencia de los indígenas locales, quienes se convirtieron en enemigos de la producción perlífera a no realizar las labores de extracción, dado el trato atroz de los españoles, quienes no cumplían los mandatos del Rey para el cuidado del indígena en dichas labores. A parte de ello, muchos españoles dejaron a la región para irse a Panamá y el Golfo de California dónde las perlas eran más grandes y existía una explotación incipiente y que en Europa se comenzaba a producir perlas artificiales; por otra parte, los diamantes comienzan a ser más apreciados como gemas (Kunz y Stevenson 1908, Galtsoff 1950) y la perla como tal disminuía en su atractivo. La historia de la explotación estaba marcada por altibajos dependiendo del agotamiento de los bancos, su recuperación y descubrimiento de otros y el mercado establecido.

LA OSTRA PERLA EN EL SIGLO XX Y HASTA LA ACTUALIDAD

A principios del siglo XX, la actividad de extracción de la ostra perla vuelve a ser atractiva como en siglos anteriores, por una mayor demanda de perlas con precios rentables para la época, llegándose a pagar hasta una onza de oro por perla (Hadgialy, 1936), debido a la explotación legal por empresas extranjeras, particularmente de Inglaterra. Dichas empresas poseían relaciones comerciales con otras de muchos lugares del mundo, lo cual facilitaba la colocación del producto (Cervigón 1997). No obstante, nuevamente la explotación entra en declive por altos y bajos de sus bancos, trayendo consigo migraciones de pescadores y pequeños empresarios margariteños a otros lugares en búsqueda de nuevos ostrales, como la realizada en 1934 al Mar Rojo. Las explotaciones en los subsiguientes años, mantuvo la actividad perlífera, pero la sobreexplotación posterior a 1937 disminuía nuevamente los bancos, pero éstos nuevamente se recuperaron y en 1943 tuvo lugar la mayor extracción del siglo, unos 1.300 kg de perlas.

A partir de la más grande cosecha de perlas del siglo XX en 1943, la explotación perlífera

entra en sucesiva decadencia que conlleva a la última exploración y a la vez explotación con rastra en 1969, para la búsqueda de perlas (Cervigón, 1997). Con el resurgir de los bancos, ya a partir en década de los 80, se desarrolla nuevamente la explotación de la ostra perlífera, pero ya con un objetivo de comercialización para el consumo de la vianda, pasando las perlas a un segundo plano o más bien a un plano inexistente o marginal; esto, debido a que el consumo de *Pinctada imbricata* no requiere que la ostra llegue a una talla máxima, como lo es para la formación de perlas de forma natural, minimizando la presencia de perlas, y siendo las perlas producidas de un tamaño no atractivo para el mercado. Todo esto ha permitido una producción registrada entre mediados de los años noventa y la actualidad de 1.000-3.000 t .

En la actualidad, como en las últimas décadas del siglo pasado, la mayor parte de los desembarques (93%) provienen de la región oriental, principalmente del Edo. Nueva Esparta (Novoa *et al.*, 1998). Existen pocos bancos u ostrales en comparación con los que existían para la época de la colonia; sin embargo, aún la explotación en la isla de Cubagua, continua siendo la de mayor producción y de mayor organización artesanal, produciendo cantidades considerables que rondan las 2.000 t/año registradas tan sólo en los 5 primeros meses del año, respetando las vedas impuestas por la administración pesquera gubernamental. A esta producción se le debe adicionar la generada en la extracción de la pepitona (*Arca zebra*), ya que se encuentra asociada a dicha especie, suponiendo, muchas veces, hasta un 5% de la producción por su pesquería (30.000-50.000 t de *Arca zebra*, 1.500-2.500 t de *Pinctada imbricata*); no obstante, la incidencia de la abundancia de *Pinctada imbricata* en los bancos de *Arca zebra* es, a través de los años, irregular, probablemente obedeciendo a factores relativos a la explotación o de presión ambiental, que genera un desplazamiento de *Pinctada imbricata*. A pesar de ello es importante indicar que, ni ésta producción, ni la establecida en el Edo. Nueva Esparta son adecuadamente registradas y se estima una producción mucho mayor, la cuál podría alcanzar hasta unas 5.000 toneladas año.

Recientemente, en el presente siglo, *Pinctada imbricata* es una de las principales especies consideradas para el aumento de la producción por actividades de acuicultura en el Caribe (Lovatelli y Sarkis 2010) y dada su reciente consideración como especie cosmopolita del trópico y subtropico, a nivel mundial.

En Venezuela se están desarrollando esfuerzos para establecer las técnicas de captación de semilla del medio natural y cultivo en el mar con elementos diseñados para *Pinctada imbricata*, haciendo transferencia de la tecnología y conocimiento a comunidades costeras con un elevado índice de pobreza (Fig. 3) y estableciendo infraestructura para la investigación y validación de tecnologías para la producción masiva a través de la producción de semillas en laboratorio, con miras de suministra semillas a dichas comunidades y la restauración y repoblamiento de bancos naturales (Fig. 4).



Figura 3.- Actividades de nuevas tecnologías para el cultivo de *Pinctada imbricata* en Venezuela y transferencia de conocimiento y tecnología comunidades costeras realizadas por el Grupo de Biología de Moluscos de la Universidad de Oriente y la Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Acuicultura del edo. Sucre.

CONCLUSIONES

Ningún recurso natural renovable ha sido histórica y socioeconómicamente tan importante en el Caribe como la ostra perla *Pinctada imbricata*.

La ostra perla *Pinctada imbricata*, y sus bancos en Cubagua fue la atracción inicial que condujo a la conquista y posterior colonización de las Américas, y con ello, el comienzo de la trasculturización de los pobladores de Venezuela.

La extracción de sus perlas constituye una historia singular, en la cual uno de sus aspectos más relevantes e interesantes a la vez, es el de la relación del hombre con un recurso natural renovable, donde la presión descontrolada ante el recurso produjo, no sólo una tiranía y opresión en el ser humano, sino una desmedida sobreexplotación, trayendo consigo un agotamiento de los bancos naturales.

Hoy en día esta especie sigue siendo extraída, aunque su interés para el consumo de su carne.

La ostra perla supone en Venezuela y el Caribe una de las especies más idóneas para la diversificación y desarrollo de la acuicultura.



Figura 4.-Actividades de repoblamiento y restauración de bancos de *Pinctada imbricata* en la costa norte del Golfo de Cariaco realizadas por el Grupo de Investigación de Biología de Moluscos de la Universidad de Oriente a través del Proyecto UDO-FONACIT 2011000344 “Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto Oceanográfico de Venezuela de la Universidad de Oriente como Centro de Monitoreo Ambiental y Producción de Semillas de Moluscos Bivalvos”.

RECOMENDACIONES

Hoy en día la isla de Cubagua prácticamente se encuentra olvidada, lamentablemente las ruinas y objetos de estudios, en su mayoría, han desaparecido... El gobierno actual, como los anteriores se han preocupado por ello, pero hasta ahora no se ha llegado a un nivel de implementación de un plan de desarrollo armónico con la Isla. Sin embargo, no hay ninguna duda que existe una deuda histórica para con ella.

Hay planes de desarrollo cultural y turístico, los cuales tienen que ir en armonía con el ambiente. Es imperativo adjuntar otras actividades productivas, la pesca, aunque sigue practicándose, no sería una solución dada su improbabilidad de subsistencia y efecto negativo ambiental. La acuicultura de moluscos bivalvos, con la ostra perla y otras especies, podrían ser parte de la solución. En este caso, las actividades de acuicultura se ajustan a la armonía con el ambiente y el turismo, lo cual soportaría el interés de la isla y reforzaría el conocimiento cultural de la misma y con ello, desarrollo y sustentabilidad.

AGRADECIMIENTOS

El presente análisis y participación en el V FIRMA fue parcialmente financiado por el Fondo Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación de Venezuela.

REFERENCIAS

- Armas-Chitty J.A. 1951. Origen y formación de algunos pueblos de Venezuela. Serie de historia. Publicaciones del Departamento de Investigaciones Históricas, Instituto de Antropología y Geografía, Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad Central de Venezuela Caracas.
- Benzoni G. 1565. La historia del Mondo Nouvo. Appresso Francesco Rampazzeto. Venitia, Italia. 345 pp.
- Cervigón F. 1997. La Perla. Fondo para el Desarrollo de Nueva Esparta. Editorial Exlibris, Caracas. 137 pp.

- Cruxent J.M., Rouse I. 1961. Arqueología Cronológica de Venezuela. VI Unión Panamericana. Washington D. C. 67 pp.
- Galtsoff P.S. 1950. The pearl fishery of Venezuela. US Dep. Fish and Wildlife Service, Spec. Sci. Rep. Fisheries, 26: 1-26.
- Hadgialy M. 1936. Historia de las perlas en Venezuela. Porlamar. 31 pp.
- Idyll C.P. 1965. The pearl of Margarita. Sea Frontiers. 11(5): 268-280.
- Kunz G. and Stevenson, Ch. 1908. The book of the pearl. The Century Co. New York. 548 pp.
- Lodeiros C., Prieto A., Cipriani R., León L.G., Conteras R. 2011. Moluscos como recurso marino en asentamientos precolombinos en el edo. Sucre, Venezuela Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui. IV:133-142
- Lovatelli A. Sarkis S. 2010. A regional shellfish hatchery for the Wider Caribbean: Assessing its feasibility and sustainability. FAO Regional Technical Workshop. 18–21 October 2010, Kingston, Jamaica. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings. No. 19. Rome, FAO. 2011. 246 pp.
- Malavé F., Ramírez-Medina J. 2001. El Modo de Vida Prehispánico en la Región Insular Neoespartana. FERMENTUM 32: 371-389
- Martín-Acosta E. 2011. La importancia de las perlas en el descubrimiento de América. Anuario de Estudios Atlánticos. 57:231-250.
- Novoa D., Mendoza J., Marcano L., Cárdenas J. 1998. Atlas Pesquero Marítimo de Venezuela. MAC-SARPA y VECEP, Caracas, 197 pp.
- Otte P 1977. Las perlas del Caribe. Nueva Cádiz de Cubagua. Fundación Boulton, Caracas, 620 pp.
- Sanoja M., Vargas I. 1995. Gente de la Canoa. Economía Política de la Sociedad Apropiadora del oriente de Venezuela. Fondo Editorial Tropykos y Dirección de Postgrado, Faces, UCV, Caracas. 46 pp.
- Suarez M.M., Bethencour C. 1994. La pesca artesanal en la costa Caribe de Venezuela. Fundación Bigott, Caracas. 269 pp.

SESIÓN DE OCEANOGRAFÍA

D. Javier Ruiz. ICMAN, CSIC, Puerto Real, España.

Dña. Laura Prieto. ICMAN, CSIC, Puerto Real, España.

D. Antonio Belmonte. TAXON S.L., Murcia, España.

D. Renato Quiñones. Universidad de Concepción, Chile.

D. José Carlos Sánchez-Garrido. Universidad de Málaga, España.

D. Jesús M. Mercado. Instituto Español de Oceanografía, IEO, Málaga, España.

La capacidad de carga como criterio en la selección de zonas de interés acuícola

Perán A., Gutiérrez J.M., Belmonte A., Aliaga, V.

Taxon Estudios Ambientales, S.L. P.Ind. Oeste, C/ Uruguay, s/n. Parc. 8-27 Nave 31, Alcantarilla (DP 30820), Murcia, España.

antonio.belmonte@taxon.es

RESUMEN

Se presenta un modelo de ordenación acuícola basado en un análisis de la capacidad de carga ambiental y productiva, que satisface las demandas ambientales, sociales, administrativas y económicas. El modelo, en realidad un protocolo de trabajo, realiza una selección inicial de zonas de aptitud acuícola (ZIAs) y el posterior análisis de su capacidad de carga. La fase inicial, mediante Sistemas de Información Geográfica y en base a diferentes capas temáticas, elimina zonas adscritas a otros usos (puertos, fondeaderos, espacios naturales, etc.) y, con posterioridad, considera la coexistencia de la acuicultura con aquellos usos que pudieran dar lugar a conflictos (zonas de baño, deportes náuticos, etc.). La capacidad de carga es evaluada también de forma secuencial, pero en base a las predicciones de diversos modelos ambientales. Un primer análisis de la tasa de renovación de las aguas establece la capacidad productiva máxima de la ZIA compatible con el cumplimiento de los objetivos de calidad establecidos para la columna de agua; seguidamente se determina la capacidad de asimilación del bentos según tasas de sedimentación del vertido particulado y, de acuerdo a ella, se dimensionan el tamaño, profundidad y densidad de cultivo admisibles en una jaula de cultivo. Un segundo modelo de dispersión de vertidos analiza las posibilidades de agrupamiento de jaulas en unidades productivas determinado el número, separación y distribución de jaulas óptimo: los criterios utilizados en este caso son el riesgo de hipoxia del cultivo y la toxicidad por el vertido de amonio. Finalmente un modelo hidrodinámico y ecológico

analiza un caso realista de distribución de instalaciones considerando interacciones con otras fuentes de vertido y su impacto sobre el medio (calidad de agua, sedimentos, comunidades biológicas, etc.).

Este protocolo constituye un caso de aproximación ecosistémica, compatible con las regulaciones de la UE (Directiva de Hábitats, Directiva Marco del Agua y Estrategia Marina), y las recomendaciones de la UICN sobre Gestión Integrada de Zonas Costeras. La metodología empleada tiene gran capacidad de adaptación, es aplicable a diferentes sistemas de cultivo, especies o localidades, por lo que proporciona una herramienta de apoyo tanto a las decisiones de manejo como las de ordenación.

PALABRAS CLAVE

Acuicultura marina, capacidad de carga, impacto ambiental, ordenación territorial.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura ha dejado de ser el futuro de la pesca para convertirse en su presente. En el año 2009 se produjeron 56 millones de toneladas, superando por primera vez a las capturas pesqueras para consumo humano, cifradas en 65 millones (FAO, 2009). Con estas cifras hace años que se convirtió en común la visión de jaulas de engorde de peces en nuestras costas. La proliferación de instalaciones pronto generó una fuerte demanda competitiva sobre el uso costero y ocasionó numerosas polémicas en cuestiones de compatibilidad y regulación, cuya competencia se repartía además entre diferentes administraciones. Se constató así que las costas no eran el espacio inmenso que muchos imaginaban y se evidenció la necesidad de una reglamentación y planificación coordinada entre todas ellas.

Dentro de Europa las perspectivas del sector se han desmarcado de la tendencia global de crecimiento continuado, con un acusado estancamiento en su producción desde 2000-2004 y ello, a pesar de un aumento del consumo de pescado y de la necesidad de importar el 60% de los productos marinos. Entre las causas de este estancamiento el propio sector cita la dificultad para la obtención de nuevas licencias, el elevado nivel de requisitos técnico-administrativos (bienestar animal, seguridad alimentaria, medioambiente, etc.), la competencia desleal de terceros países aún dentro de la UE, la inseguridad legal tanto nacional como comunitaria

o la lentitud y falta de coordinación entre administraciones (APROMAR, 2011).

Los intentos por paliar esta situación en el marco comunitario son antiguos. En 2002, la Comisión

lanzó la primera estrategia para el desarrollo sostenible de la acuicultura europea (COM(2002)0511 final), cuya recomendación 413 estableció los principios que deberían guiar las estrategias nacionales, sobre la aplicación de la Gestión Integrada de las Zonas Costeras. Sin embargo este tipo de recomendaciones se han revelado insuficientes, constataándose la necesidad de instrumentar planes de ordenación de la acuicultura con naturaleza jurídica equivalente a los planes de ordenación territorial. Próximamente la revisión de la política pesquera común obligará, a través de dos nuevos reglamentos, a cada Estado a aprobar de aquí a 2014 planes estratégicos nacionales plurianuales en el marco de sus competencias.

En la práctica los diversos instrumentos de ordenación actualmente posibles (Planes de Ordenación del Litoral, Directrices de ordenación del Territorio, Planes Directores de Acuicultura, etc.) coinciden en último término en la designación, bajo dispar denominación, de zonas adecuadas para el desarrollo de la acuicultura (*zonas aptas, zonas de interés acuícola, polígonos de cultivos marinos, etc.*) como fórmula ideal para articular el desarrollo sostenible del sector considerando la multiplicidad de usos y su encaje en el medio ambiente. La designación de este tipo de parcelas, y su posterior oferta pública presenta múltiples ventajas:

1. Identifica para el sector las zonas más adecuadas para el establecimiento de la actividad, evitando la solicitud de concesiones en zonas incompatibles por motivos administrativos, ambientales o técnicos (coherencia territorial).
2. Dota de seguridad jurídica a la instalación y evita conflictos por interferencias con otras actividades (Gestión Integrada de Zonas Costeras)
3. Asegura un mayor rendimiento de la actividad evitando zonas poco productivas.
4. Acelera y abarata la tramitación de las concesiones, al proporcionar los estudios básicos del medio necesarios para el proyecto técnico y estudios ambientales.
5. Al agrupar la actividad promueve la sinergia empresarial facilitando la aparición de industria auxiliar y la especialización del sector (formación de clústeres).
6. Las metodologías para la selección de emplazamientos y análisis de la capacidad de carga se perfilan como una herramienta de primera necesidad por parte de las Administraciones. En la actualidad algunas comunidades autónomas se han

adelantado a la nueva reglamentación europea y ya han definido su política al respecto. Es el caso de la Ley 17/2003, de 10 de abril, de Pesca de Canarias, que pretende ser el elemento de regulación fundamental de la acuicultura en Canarias y que deberá articularse a través del Plan Regional de Ordenación de la Acuicultura en Canarias (PROAC). Una vez más el Plan se basa en el establecimiento en la identificación de Zonas de Interés Acuícola, la regulación de las especies cultivadas y el establecimiento de un Límite Global Máximo Regional de producción. Aunque este límite es establecido de acuerdo a un modelo económico de crecimiento y no a la capacidad de carga del ecosistema.

El objetivo de esta ponencia es exponer de forma resumida los protocolos desarrollados por TAXON Estudios Ambientales S.L. para los estudios de capacidad de carga desarrollados en diversos tramos del archipiélago canario como etapa final destinada a concretar la producción final en las ZIAs desarrollada por el PROAC. Esta metodología es fruto de la experiencia acumulada durante los últimos años en los diferentes trabajos realizados tanto en el Mar Mediterráneo como en el Atlántico. Estos protocolos abordan el problema bajo una aproximación ecosistémica, en consonancia con los principios de la Gestión Integrada del Litoral (GESAMP, 2001) y las recomendaciones de la IUCN (2009).

MÉTODOS Y RESULTADOS

SELECCIÓN DE EMPLAZAMIENTOS

Se realiza una zonificación inicial mediante la aplicación de procedimientos SIG. La tabla I enumera las actividades consideradas en cada fase, que se describen seguidamente:

1. Usos exclusivos: descarte para el uso acuícola de tramos costeros destinados forma oficial (con base jurídica) a otras actividades (zona protegida, uso portuario, militar, tráfico marítimo, etc.). De forma adicional se recomienda establecer una franja de seguridad o “buffer” de anchura dispar según el uso considerado. Es el caso de las franjas de protección en torno a determinadas comunidades biológicas tiene como propósito asegurar que no reciban impactos por la dispersión de vertidos desde las instalaciones de acuicultura.
2. Usos conflictivos: se refiere a aquellos usos que, sin existir una reglamentación de carácter legal que lo impida, sí son susceptibles de generar reacciones adversas, ya

sea por interacciones entre sus respectivos vertidos (emisarios); económicos como la pesca; o sociales como el turismo. Como norma se recomienda evitar este tipo de interacciones alejando en la medida de lo posible la ubicación de las zonas aptas. Es un criterio que la administración local puede variar discrecionalmente.

3. Criterios técnicos: finalmente se considera la influencia de factores referidos genéricamente como técnicos y que hacen referencia a inconvenientes que pudiera tener el establecimiento y mantenimiento de la instalación. Es el caso por ejemplo de un oleaje excesivo, bien porque la altura de ola máxima compromete la integridad física de la instalación, o porque impide las tareas de mantenimiento o alimentación. Velocidades de corrientes muy elevadas pueden suponer un elevado gasto energético para el pez e impedir su normal crecimiento. En cualquier caso se trata de criterios relacionados con la viabilidad y rentabilidad cuya valoración se atribuye al promotor.

Tabla I.- Actividades consideradas en cada fase.

Usos exclusivos	Usos conflictivos	Criterios técnicos
Tráfico marítimo	Usos turísticos (hoteles, baño, buceo, deportes, etc.)	Batimetría / pendiente
Espacios naturales protegidos incompatibles según legislación	Playas, zonas de baño y deportes náuticos	Oleaje
Cableado submarino,	Emisarios y puntos de vertido	Corrientes
Zonas con Presencia de especies protegidas	Pesca (caladeros, almadrabas, artes fijas, etc.)	Tipo de sustrato
Zona portuarias, embarcaderos y fondeaderos		Distancia a ríos, ramblas y torrenteras.
Yacimientos arqueológicos		Distancia a puertos e infraestructuras en tierra.
Zonas de marisqueo y caladeros		

El resultado final de esta fase ha de ser una cartografía temática relativa a la propuesta de Planificación Territorial, donde claramente se delimiten los diferentes usos del sector costero analizado, incluidas las zonas donde resulta posible el establecimiento de la acuicultura. Dentro de ésta deberían diferenciarse aquellas porciones donde aún siendo posible la actividad puede existir algún tipo de obstáculo (oleaje, otros usos), dejando alerta expresa del mismo.

ESTUDIO DEL MÁXIMO APROVECHAMIENTO

En el protocolo desarrollado se establece la capacidad de carga de forma secuencial:

1. Máxima producción dentro de la zona apta: en este apartado se realiza una primera aproximación a la máxima biomasa que podrían estabularse dentro de una zona de interés acuícola sin provocar una perturbación indeseable en la calidad del agua y con independencia del tipo de instalaciones y su distribución. El factor límite usado en este caso es alguna variable vinculada a la calidad del agua como por ejemplo los nitratos, y el criterio de calidad es que la zona apta no interfiera con los objetivos de obtener el “buen estado ecológico” establecidos por la Directiva Marco del agua para la masa particular. Para este cometido pueden emplearse simples modelos de mezcla perfecta como el de Silvert (1992):

$$H = (\Delta C/R)(VT) \quad (1)$$

Donde H es la capacidad de carga, ΔC es el incremento de concentración máximo permitido, R es la tasa de vertido, V el volumen de la masa de agua y T es la tasa de renovación de la masa de agua. La tasa de renovación puede obtenerse de los métodos recomendados en la ROM 5.1 (Puertos del Estado, 2005), o en casos más complicados (tramos costeros extensos o irregulares) a partir de modelos hidrodinámicos (Braunschweig, 2003).

2. Dimensionado óptimo de las unidades de producción: Una vez estimado el máximo de toneladas de cultivo que puede albergar cada zona, procede distribuir adecuadamente esta producción en la misma, agrupándolas según unidades que serán las concesiones a otorgar. Si bien las posibilidades de diseño (número de jaulas, diámetro, trenes, especies, densidad de cultivo, etc.) conviene imponer a éstas algunas características que aseguren su viabilidad. Esta unidad de producción deberá además cumplir unos criterios de rentabilidad económica y representatividad del tipo de cultivo en lo que especies se refiere y tipo de instalación.

- ◇ *Tamaño y localización jaulas.* se establece en base a la *capacidad asimilativa del bentos*: El principal impacto sobre el bentos se debe a la acumulación de materia orgánica procedente del vertido particulado de las instalaciones (heces y pienso. De forma natural el bentos es capaz de asimilar cierta cantidad de materia orgánica gracias a los procesos de degradación microbiana tanto aerobia (nitrificación) como anaerobia (desnitrificación), la suma de los cuales establece su “capacidad de carga”. De forma muy simplificada se ha propuesto el siguiente modelo de acumulación-degradación (Sowles *et al*, 1994):

$$d(AC)/dt = (BCL) - k*(AC) \quad (2)$$

- ◇ Donde AC es la cantidad de materia orgánica acumulada en el sedimento, BCL sería la tasa de sedimentación de materia orgánica y $k^*(AC)$ representa las pérdidas por resuspensión, consumo de peces e invertebrados y degradación microbiana. En el equilibrio los procesos de acumulación son iguales a los de degradación ($d(AC)/dt=0$). Conocido el límite tolerable de perturbación del bentos ($AC_{m\acute{a}x}$) y "k" puede estimarse la tasa de sedimentación límite para una jaula. La tasa de sedimentación depende a su vez de un gran número de factores tanto ambientales (el hidrodinamismo, oleaje, recorrido vertical de la partícula, granulometría, resuspensión, etc.) como de diseño de una jaula (dimensiones jaula, profundidad, densidad de cultivo, especies, tipo de pienso). La tasa de sedimentación puede obtenerse de simples ecuaciones (Silvert, 1994) o de modelos de dispersión lagrangianos más o menos complicados (DEPOMOD, MOHID). Si bien lo aconsejable sería regular una tasa de sedimentación límite, resulta más práctico dadas unas condiciones ambientales establecer unos criterios para la profundidad, tamaño de jaulas y densidad de cultivo.
- ◇ *Dimensionado de la Unidad productiva*: se calcula el número de jaulas necesarias para asegurar la viabilidad económica. En la actualidad no resultan rentables las instalaciones de cultivo de reducidas dimensiones. Hernández-Guerra *et al* (2005) estimaron que una reducción de los precios de 2005 del 10% haría entrar en pérdidas a empresas con producciones inferiores a las 200 toneladas. De igual manera una subida del precio del pienso, que puede suponer el 40% de los costes de producción, puede determinar pérdidas para empresas de tamaño incluso superior. La economía de escala puede permitir una importante reducción de costes tanto en la gestión como en la adquisición de insumos, habiéndose estimado un efecto apreciable a partir de 600 t (*Fundación Alfonso Martín Escudero*, 2005). Gasca-Leyva *et al.* (2001) estimaron para Canarias el tamaño óptimo entre las 600 y 800 t anuales.
- ◇ *Criterios de distribución*: el objetivo de este apartado es la obtención de unos criterios de distanciado entre jaulas e instalaciones. Los requisitos considerados son que, a pesar de la acumulación de unidades de producción en la zona de interés acuícola, ni el consumo de oxígeno por los propios peces genere situaciones de anoxia bajo condiciones ambientales desfavorables para el cultivo (Calderer, 2001), ni el amonio, excretado también por los peces, alcance niveles tóxicos (Wajsbrodt *et al.*, 1993), o la aparición de enfermedades y estrés (Sousa y Meade, 1977). El análisis de la influencia de ambas variables se determina a través de un modelo de dispersión preferentemente acoplado a un modelo de calidad de agua en el que se analice bajo una *condición crítica* diversos escenarios de agrupación de jaulas y trenes de jaulas que permitan establecer las distancias de separación óptimas.

3. Distribución unidades de producción: Una vez determinadas las zonas de interés acuícola, las toneladas de cultivo admisibles y los criterios de localización y distribución óptima de las posibles concesiones, procede plantear una distribución concreta de instalaciones hasta completar la capacidad de carga establecida. Este paso puede ser acometido directamente por la administración como una fase más de la planificación territorial o postergado a los estudios ambientales posteriores (EIA) que deberán acompañar la petición de nuevas concesiones. En ambos casos conviene verificar que la solución propuesta es plenamente compatible con el medio ambiente y resto de actividades existentes. Esta verificación debe basarse en un modelo de dispersión que considere adecuadamente la variabilidad hidrodinámica y su ecología (bentos y columna de agua) y sea capaz de considerar simultáneamente todas las fuentes y tipos de vertido existente en la zona (jaulas, emisario, ríos, etc.) y los valores ambientales a proteger. Se precisan por tanto sistemas de modelado algo complejos como MOHID, COHERENS, POM, MIKE3D, Delft, etc.

DISCUSIÓN

Hasta ahora los modelos denominados impacto–aptitud (*Gómez Orea*, 1992) han sido preferentemente utilizados en la selección de zonas aptas. La evaluación de la Capacidad de Carga es un análisis a menudo postergado a fases posteriores y que raramente se culmina. Diversos foros internacionales abogan porque ese tipo de estudios se doten de una aproximación ecosistémica (UICN, 2009). El concepto de Capacidad de Carga es todavía algo ambiguo y sujeto a dispar interpretación, creado en el ámbito de la Ecología en referencia al tamaño de una población y el cambio que provoca en los recursos de los que depende (Odum, 1959). Desde entonces el término se ha popularizado y aplicado a un gran número de ecosistemas y relaciones, incluyendo aspectos sociales y económicos de la gestión de recursos. En este trabajo se ha usado de la propuesta de la NIWA (2000) de distinción de término:

- ❖ Capacidad de carga física: producción determinada únicamente por el espacio físico disponible para la ubicación de instalaciones (es, en general, mayor que las siguientes).
- ❖ Capacidad de carga productiva: densidad del cultivo a la cual la producción es máxima.
- ❖ Capacidad de carga ambiental: biomasa por encima de la cual se producen efectos indeseables en el medioambiente.
- ❖ Capacidad de carga social: nivel de producción por encima del cual surgen conflictos con otros usos humanos.

- ❖ El actual potencial de los modelos de simulación ambiental (hidrodinámicos y ecológicos) ofrece una excelente oportunidad de aplicación para este tipo de aproximaciones. El protocolo aquí desarrollado hace uso de varios de ellos y constituye un marco de estudio ideal para este tipo de trabajos. Por un lado se trata de una aproximación secuencial que sigue un esquema intuitivo en el que progresivamente se definen los diferentes tipos de Capacidad de Carga, según un orden intuitivo en el diseño de una concesión y de complejidad creciente. Lo que permite reservar las tareas más complicadas (simulaciones hidrodinámicas, estudios de dispersión 3D) para escenarios más reducidos, evitando la necesidad de plantear un número considerable de alternativas. Así mismo el conjunto de todos estos procedimientos implica la consideración de todas las definiciones de Capacidad de Carga enunciadas anteriormente tal y como se evidencia en la tabla II donde se asignan las equivalencias de cada etapa con la definición correspondiente.

Tabla II.- Cuadro resumen de las fases de trabajo, donde además se relacionan las variables de análisis seleccionadas, método de estudio empleado y resultado prácticos esperados. Se incorpora el tipo de Capacidad de carga considerada según criterios del NIWA (2000).

Fase	Variabes analizadas	Método Estudio	Resultados prácticos	Clase Capacidad de carga
Usos exclusivos	Usos reglados	Álgebra de mapas	Mapa zonas aptas	C.C. física
Usos conflictivos	Usos existentes	Álgebra de mapas	Mapa zonas óptimas	C.C social
Criterios técnicos	Oleaje, distancia a puerto, corrientes, ríos	Álgebra de mapas	Mapa zonas limitadas	C.C. productiva
Máxima producción	Nitratos	Dilución según tasa de renovación	Máxima biomasa estable	C.C. asimilativa
Dimensionado	Rentabilidad económica	Modelo económico	Tamaño de la unidad productiva	C.C. social
Localización jaulas	Capacidad asimilación bentos	Modelo de capacidad de asimilación	Dimensiones jaula Profundidad óptima Densidades cultivo	C.C. asimilativa
Agrupación jaulas	Riesgo hipoxia Concentración amonio	Modelo de dispersión vertido disuelto	Distancia entre jaulas Distancia entre concesiones	C. productiva
Distribución	Todas	Modelo dispersión	Verificación bajo un escenario realista.	Todas

El impacto sobre el bentos y su capacidad de asimilación han sido seleccionados para

establecer la tasa de sedimentación admisible y, a través de las variables ambientales y técnicas que la determinan, definir las posibilidades de localización y diseño de una jaula individual. La selección del bentos resulta adecuada pues se ha demostrado que el mayor impacto de las jaulas procede del vertido particulado (pienso y heces), y que, por lo general, se trata de un impacto local y restringido a unos pocos cientos de metros de la instalación (Gowen, *et al.* 1994). Establecer unas distancias mínimas entre jaulas y entre concesiones suele ser suficiente para evitar una sinergia en la huella de materia orgánica sobre el bentos, pero no para controlar el impacto bajo cada jaula de forma individual. En realidad, resulta imposible legislar “a priori” unas condiciones que garanticen unos niveles de contaminación tolerables. De acuerdo a los modelos de dispersión son las pérdidas de pienso no consumido (sobrealimentación) la principal responsable del impacto sobre el bentos. Es decir; bastaría una única jaula mal gestionada para producir un impacto intolerable, aunque éste fuera a una escala muy localizada.

Por el contrario las variables relativas al vertido disuelto parecen más adecuadas para el análisis de la C.C. asimilativa global de la ZIA, y de las interacciones entre jaulas y concesiones, ya que sus efectos se verifican a distancias superiores y sí resultan de carácter sinérgico. El principal obstáculo para su estima es la ausencia de unos objetivos de calidad legalmente establecidos o del grado de perturbación tolerable. La Directiva Marco de Agua, constituye una excepción estableciendo unos límites precisos para la calidad de la columna agua, sin embargo no se halla plenamente implementada. Para otros muchos factores y especialmente para numerosas comunidades biológicas, este criterio resulta algo ambiguo exigiéndose por parte de las administraciones requisitos bastantes difíciles de cuantificar como “...*que sea compatible con el medio...*”, “...*no afecte de forma significativa...*”. En este sentido sería deseable un pronunciamiento más riguroso sobre el tópico

Finalmente en la búsqueda por parte la administración de la mejor localidad para la actividad ha existido tradicionalmente un cierto “espíritu paternalista” por la frecuente consideración de factores relativos a la productividad tales como distancias a puerto, profundidades máximas, existencia de infraestructuras, oleaje, etc., y determinando umbrales de viabilidad para ellos. Sin embargo se trata de decisiones que competen a la iniciativa privada. La aproximación aquí planteada, obtiene una zonificación clara y con base legal, y relega en el empresario la consideración de este tipo de criterios” aunque lo dota de las advertencias necesarias. Esta decisión parece adecuada pues las limitaciones impuestas por muchos de estos factores técnicos pueden variar. Es el caso de la profundidad; hasta hace diez años, cotas batimétricas superiores a 50 metros suponían una barrera para el establecimiento de la actividad debido principalmente al incremento exponencial de los costes de mantenimiento. Sin embargo hoy día los empresarios se muestran dispuestos a establecerse en cotas muy superiores si la rentabilidad lo permite. Se trata por tanto de una decisión que en última

instancia debe tomar el empresario.

CONCLUSIONES

Se ha presentado un modelo de ordenación acuícola basado en un análisis de la capacidad de carga ambiental y productiva, que satisface las demandas ambientales, sociales, administrativas y económicas. El modelo es compatible con los requisitos emanados de las diferentes recomendaciones regulaciones administrativas como la Política pesquera común, Directiva marco del Agua, Estrategia marina, al tiempo que considera las recomendaciones de organismo internacionales como IUCN en relación a Gestión Integradas de Costas y aproximación ecosistémica a la capacidad de carga.

La gran capacidad de adaptación de la metodología empleada en este trabajo, aplicable a cualquier sistema de cultivo, especies cultivadas, la convierten en una herramienta muy útil en la toma de decisiones de gestión (densidad de peces, las distancias de la jaula, jaula de diámetro, etc.) y ordenación (producción admisible, emplazamientos adecuados, etc.). Además se trata de un protocolo muy versátil que puede adaptarse a otros marcos legales y en consecuencias a otras áreas geográficas; asimismo permite el uso de diversos modelos hidrodinámicos, de mezcla, etc., así como introducir o variar los criterios de ordenación y protección del patrimonio cultural y natural.

BIBLIOGRAFÍA

- APROMAR, 2011. La acuicultura marina de peces en España. Ed. Fondo Europeo de Pesca, FROM, Ministerio de Medio Ambiente y Medio rural y Marino. Disponible en internet en: <http://www.apromar.es/Informes/informe%202012/Informe-APROMAR-2012.pdf>. 77 pp.
- Braunschweig, F., Martins, F., Chambel, P. y R. Neves, 2003, A methodology to estimate renewal time scales in estuaries: the Tagus Estuary case, *Ocean Dynamics* 53: 137–145
- Calderer, A. 2001. Influencia de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento y consumo de oxígeno de la dorada (*Sparus aurata* L.). Tesis doctoral de la Universitat de Barcelona. Departament de Biologia Animal.
- Hernández, J., León M. y León C. 2003. Optimización Dinámica en la gestión del cultivo de

- la dorada en la región Mediterránea y Canarias. Documentos de trabajo conjuntos ULPGC-ULL Disponible en internet en: <http://www.fceye.ull.es/new/investigacion/docum/ull-ulpgc/DT2003-05.pdf>. 34 pp
- (FishStat) FAO Fishstat. 2009. Food and Agriculture Organization. Fishstat: Fisheries Data Analysis Software and Data.
- Fundación Alfonso Martín Escudero, 2005. Acuicultura marina mediterránea: producción, comercialización: competencia internacional del sector español de la lubina y la dorada. Mundi-Prensa (Ed.). Madrid. 366 pp.
- Gasca-Leyva, E., León, C., Hernández, J., Vergara, J.M. (2001): Análisis bioeconómico del impacto de la localización en el cultivo de la dorada. *Economía Agraria y Recursos Naturales* Vol. 1(1), 55-76.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO-IOC/WMO/WHO/IAIA/UN/UNEP Joint group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). 2001. *Planning and Management for sustainable Coastal Aquaculture Development. Rome, Italy: GESAMP Reports and Studies N°68*. Disponible en internet en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y1818e/Y1818e00.pdf>
- Gómez Orea, D. 2002. Evaluación de impacto ambiental . Ed MUNDI-PRENSA LIBROS, S.A. Madrid. 750 pp.
- Gowen, R.J., Smyth J.R. 1994. Modelling the spatial distribution and loading of organic fish farm waste to the seabed. In *Modelling Benthic Impacts of Organic Enrichment from Marine Aquaculture*, Hardgrave, B.T. (ed.). Can. Tech. Rep.Fish.Aquat.Sci.. Canadá, pp. 19-30
- Hernández, J., León, M. y León, C. 2003. Optimización Dinámica en la gestión del cultivo de la dorada en la región mediterranea y canaria, Documentos de trabajo conjunto ULL-ULPGC, Facultad de Ciencias Económicas de la ULPGC, <http://EconPapers.repec.org/RePEc:can:series:2003-05>.
- IUCN, 2009. Aquaculture. Site selection and Site Management Páginas, UICN, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España y la Federación Europea de Productores de Acuicultura (Eds) en *Guide for the sustainable Development of Mediterranean Aquaculture* , Gland, Switzerland and Malaga, Spain. 303 pp.
- NIWA, 2000. An overview of factors affecting the carrying capacity of coastal embayments for mussel culture. NIWA Client Report: CHC00/69.
- Odum, E. P. (1959). *Fundamentals of Ecology*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A. 546pp.
- Silvert, W. 1998. Modelling benthic deposition impacts of organic matter loading. *En Modelling Benthic impacts of organic enrichment from marine aquaculture* B.T.

Hardgrave (Eds). Cap II. Pag (1-18) Dartmouth, Nova Scotia, Canadá.

- Sowles, J., Churchill, L. y Silvert W.. 1994. The effect of benthic carbon loading on the degradation of bottom conditions under farm sites. In *Modelling Benthic Impacts of Organic Enrichment from Marine Aquaculture*, Hardgrave, B.T. (ed.). Can. Tech. Rep.Fish.Aquat.Sci.. Canadá, pp. 31-46.
- Sousa, R. J. y Meade, T. L. (1977). Influence of ammonia on the oxygen delivery system of coho salmon hemoglobin. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 58: 23-58.
- Wajsbrodt, N., A. Gasith; A.M. Diamant y D. M. Popper. 1993. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *Journal of Fish Biology*. 42, 321-328.

Dinámica de población y metabolismo del ctenóforo *Bolinopsis vitrea* en la bahía de Cádiz

Prieto L., Macías D.

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC); Republica Saharaui 2; 11519 Puerto Real (Cádiz), España.
laura.prieto@icman.csic.es

RESUMEN

En muchas regiones costeras se producen acumulaciones de zooplancton gelatinoso, las cuales tienen un impacto tanto en el ecosistema en el que se desarrollan como en diversas actividades económicas que tienen lugar en el litoral. En este estudio se realiza un análisis de la dinámica de poblaciones y del metabolismo del único grupo de zooplancton gelatinoso que genera acumulaciones en la bahía de Cádiz, el ctenóforo *Bolinopsis vitrea*. El objetivo de la investigación es conocer la resistencia de esta especie al rango de las condiciones ambientales a la que está expuesta en la naturaleza, ya que en ello puede explicar su dinámica de población. Para ello, se realizaron experimentos en el laboratorio con varias clases de tamaño de ctenóforos, permitiendo identificar el origen de las fluctuaciones estacionales de la población de *Bolinopsis vitrea* y su impacto potencial en el ecosistema. Su menor tasa de reproducción, junto con su menor tasa de ingestión comparado con el ctenóforo *Mnemiopsis leidyi* explica por qué *Bolinopsis vitrea* tiene un impacto menor en la cadena trófica. Aún así, su elevada tasa metabólica (tanto por sus tasas de respiración como de excreción) tiene un importante impacto en los ciclos biogeoquímicos. El control ambiental que ejerce la temperatura, donde las temperaturas elevadas implican una menor supervivencia y evitan su crecimiento, y teniendo en cuenta las escenarios futuros de calentamiento global, proyectan

un futuro incierto para esta especie, con los consecuentes efectos en la red trófica pelágica donde normalmente se desarrollan.

PALABRAS CLAVE

Medusas, alimentación, crecimiento, supervivencia, respiración, excreción.

INTRODUCCIÓN

Cuando se produce un “bloom” de organismos gelatinosos en un ecosistema pelágico, hay impactos en la cadena alimenticia, como la merma de biomasa de zooplancton (Roohi *et al.*, 2008) y un incremento en la biomasa de fitoplancton, debido al descenso de su consumo por el zooplancton (Roohi *et al.*, 2010), junto con un incremento de la disponibilidad de nutrientes en la columna de agua proveniente de la excreción de los organismos gelatinosos (Pitt *et al.*, 2009; Condon *et al.*, 2011), además de los efectos a largo plazo en la captura de peces, causado por la depredación de huevos y larvas de peces.

Dentro del zooplancton gelatinoso, existe un grupo que sobresale de carnívoros en el medio pelágico, los ctenóforos. Estos han sido encontrados como importantes depredadores en aguas superficiales en mar abierto, en el Atlántico Norte y Océano Índico (Harbison *et al.*, 1978), en el Océano Ártico (Purcell *et al.*, 2010), en zonas costeras de América del Norte y del Sur, Mar Mediterráneo, Negro, Azov, Caspio y Mar de Mármara, (ver revisión de Purcell *et al.*, 2001, 2007), y recientemente en el Mar Adriático (Shiganova and Malej, 2009) y en los Mares Báltico y del Norte (Hammer *et al.*, 2011; Javidpour *et al.*, 2009).

En la costa atlántica noroccidental, concretamente en un área de menor exposición a mar abierto, como es la bahía de Cádiz, hay una población estable de ctenóforos del Orden Lobata, familia Bolinopsidae, (como *Mnemiopsis leidyi*), cuyas dinámicas poblacionales, metabolismo y control medioambiental no han sido estudiados aún. Es el único grupo de zooplancton gelatinoso con bloom poblacional presente en ese ecosistema. Este ctenóforo es *Bolinopsis vitrea*, diferenciado de *Mnemiopsis* en la longitud relativa de los lóbulos con el cuerpo, pero con forma y rango de tamaño similar. *Bolinopsis vitrea* ha sido observado en el Océano Atlántico Sur en Table Bay (África), en el Atlántico Tropical (Bahamas) (referencias en Mianzan, 1999) y a las afueras de las costas brasileñas (Oliveira *et al.*, 2007). Dentro del

Mediterráneo, ha sido observado por buzos en el Mar de Alborán (Mills *et al.*, 1996), en el Norte del Mar Egeo Sea (Shiganova *et al.*, 2004) y recientemente en el Mar Adriático (Lucic *et al.*, 2012).

Para comprender los mecanismos conductores de los enjambres de *Bolinopsis vitrea*, se realizaron un alto número de experimentos para parametrizar el control de las condiciones físicas de dicho ctenóforo y el impacto de sus blooms en otros niveles tróficos del sistema. El propósito principal de este estudio fue comprobar la resistencia de *Bolinopsis vitrea* a rangos de condiciones medioambientales a las cuales se encuentra expuesto en la naturaleza, ya que estas podrían estar representadas en el origen de las dinámicas poblacionales, así como explorar si su presencia puede estar reflejada por los efectos de otros componentes en la cadena alimentaria. Los experimentos fueron realizados con diferentes tamaños de ctenóforos, y los resultados obtenidos mostraron la fuente de las fluctuaciones estacionales en la población de *Bolinopsis vitrea*, y su impacto potencial en su ecosistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población natural de *Bolinopsis vitrea* fue muestreada semanalmente desde junio del 2010 hasta junio del 2011, en el interior de la bahía de Cádiz, al suroeste de la Península Ibérica (36° 31' 55" N, 6° 12' 56" E). La estación de muestreo estaba dentro de un caño mareal en la bahía de Cádiz. Dos horas antes de la pleamar, los individuos eran recogidos remolcando suavemente una red de 200 μm en el primer metro de la columna de agua. En la captura, los ctenóforos eran inmediatamente transportados al laboratorio (a 15 minutos del lugar), contados y medidos (longitud y volumen desplazados).

De un total de 76 ctenóforos de diferentes tamaños, se obtuvo peso húmedo y seco (Omori and Ikeda, 1984). El plancton restante recogido se fijó con formaldehído al 4%, con Borato sódico como tampón. Se calculó la estimación del biovolumen de zooplancton (ml m^{-3}) al volumen filtrado. El volumen filtrado fue estimado mediante un flujómetro General Oceanics 2030R. La temperatura y la salinidad se registraron simultáneamente durante el muestreo usando un CTD NKE. Como consecuencia del efecto mareal, la salinidad y temperatura pueden variar ligeramente durante el día, pero la comparación con un registro de medidas a 1 km río arriba en el canal, nos dió una buena correlación ($r^2=0.89$).

Se realizaron una serie de experimentos para medir la alimentación, reproducción,

supervivencia, crecimiento, y las tasas de respiración y excreción de *B.vitrea*. Las condiciones para estos experimentos están recogidas en la tabla I.

Tabla I.- Resumen de los diferentes experimentos llevados a cabo.

Proceso Metabólico	Experimento	Código del Experimento [num. of tratamientos]	Duración	Descripción del tratamiento	Réplicas por tratamiento [num. de individuos por réplica]
Alimentación y Reproducción	Tamaño del tanque	Exp. A [3]	24 horas	5 L, 10 L y 20 L, todos a 22°C y 35 de salinidad y alimentados con zooplancton natural	3 [3]
	Selectividad en la presa (mezcla <i>Artemia salina</i> y huevos de peces)	Exp. B [1]	16 horas	Tanques de 10 L y 20 L, todos a 22°C y 35 de salinidad	9 [1]
	Capacidad para alimentarse de larvas de peces	Exp. C [1]	16 horas	Tanques de 20 L, todos a 22°C y 35 de salinidad	3 [1]
	Capacidad para alimentarse de éfiras, metaéfiras y medusas	Exp. D [1]	16 horas	Tanques de 20 L, todos a 22°C y 35 de salinidad	3 [1]
Supervivencia y Crecimiento	Temperatura	Exp. E [5]	20 días	12°C, 17.5°C, 22°C, 25°C y 28°C, todos a 35 de salinidad y alimentados diariamente con <i>Artemia salina</i>	3 [4]
	Salinidad	Exp. F [5]	20 días	28, 31, 33, 35 y 38 de salinidad, todos a 22°C y alimentados diariamente con <i>Artemia salina</i>	3 [4]
Respiración y Excreción	Temperatura y salinidad constantes, agua de mar filtrada por 0.2 µm	Exp. G [1]	17 horas	250 ml containers, todos a 22°C y 35 de salinidad	20 [1]

RESULTADOS

DINÁMICA POBLACIONAL

Durante el periodo estudiado, se registraron tres máximos de biomasa en la bahía de Cádiz: uno desde comienzos de junio hasta primeros de julio (máximo de 14.8 g WW m⁻³),

otro pequeño pico en octubre (máximo de 1.5 g WW m^{-3}), y un tercero en primavera (de marzo a junio), con valores máximos de 41.6 g WW m^{-3} (Fig. 1a). *Bolinopsis vitrea* estuvo totalmente ausente durante el verano (mediados de julio hasta mediados de septiembre) y durante el invierno (diciembre hasta final de febrero). La temperatura fluctuó desde los 12°C en diciembre hasta los 28°C en agosto, mientras que el rango de salinidad estuvo entre 19.4 a mediados de marzo, hasta los 39.5 en agosto y septiembre (Fig. 1b). El biovolumen máximo de zooplancton se dió en verano con una concentración de 81.91 ml m^{-3} , cuando había presentes muy pocos ctenóforos (Fig. 1a).

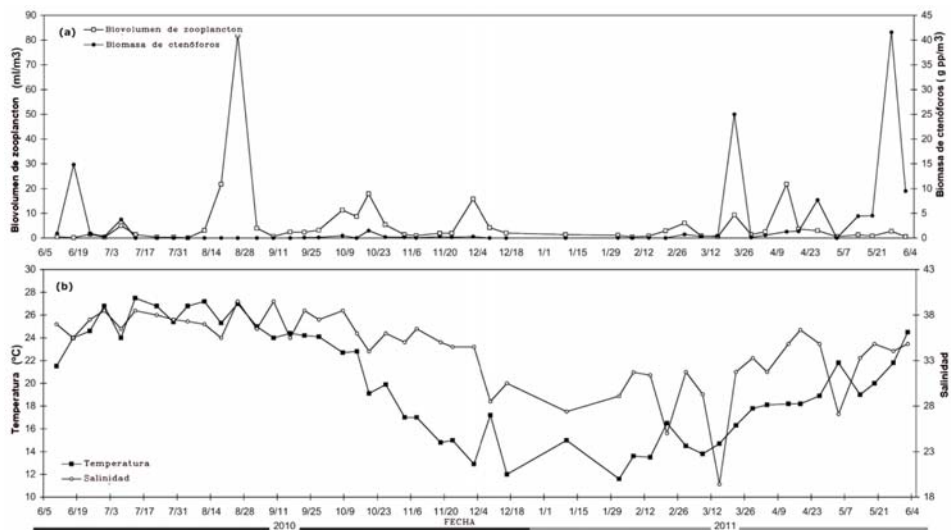


Figura 1.-Dinámica de población durante el periodo anual de muestreo. (a) Zooplancton biovolumen (ml m^{-3}) y biomasa de ctenóforo (g pp m^{-3}). (b) Temperatura ($^\circ\text{C}$) y salinidad.

EXPERIMENTOS DE ALIMENTACIÓN Y REPRODUCCIÓN

En el Experimento A, la tasa de filtración como respecto de la longitud del ctenóforo fue medida usando una comunidad de zooplancton de composición natural. La tasa de filtración (F , L d^{-1}) aumentó con respecto de la longitud (L , mm) como $F = 1.66 L^{1.85}$, $r^2=0.86$ (Fig. 2). La tasa de ingestión para adultos fue $3940 \pm 119 \text{ ind d}^{-1}$ (media \pm SE, $N = 9$), mientras que para larvas fue 17 veces inferior ($220 \pm 43 \text{ ind d}^{-1}$, $N = 9$). Los especímenes larvarios no se reprodujeron, mientras que el rango de fecundidad para adultos fue desde 60 ± 52 huevos $\text{ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($N = 12$) para especímenes más grandes que 31 mm de longitud, a 14 ± 17 huevos $\text{ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($N = 12$) para especímenes de entre 21 a 30 mm.

En el Experimento B, *Bolinopsis vitrea* fue incubado con huevos de pez (dorada), y zooplancton recién eclosionado (*Artemia salina*). La tasa de filtración de huevos de pez fue cero para las larvas de ctenóforos, mientras que para ctenóforos de 22 y 24 mm, la tasa de ingestión fue de 259 y 349 huevos d^{-1} , respectivamente. La tasa de filtración fue significativamente más alta en *Artemia salina* que en huevos de pez (Test t-student, $t_9 = 3,19$, $P = 0,006$). La tasa de ingestión para ctenóforos adultos de *Artemia salina* fue 1406 ± 507 ind d^{-1} ($N = 3$), mientras que para las larvas la tasa de ingestión fue seis veces menor (234 ± 134 ind d^{-1} , $N = 6$). Experimentos C and D mostraron la ausencia total de alimentación de *B.vitrea* tanto de larvas de peces, como de medusas. En ninguna de las réplicas para ambos experimentos se consumió ninguna presa tras el periodo de incubación.

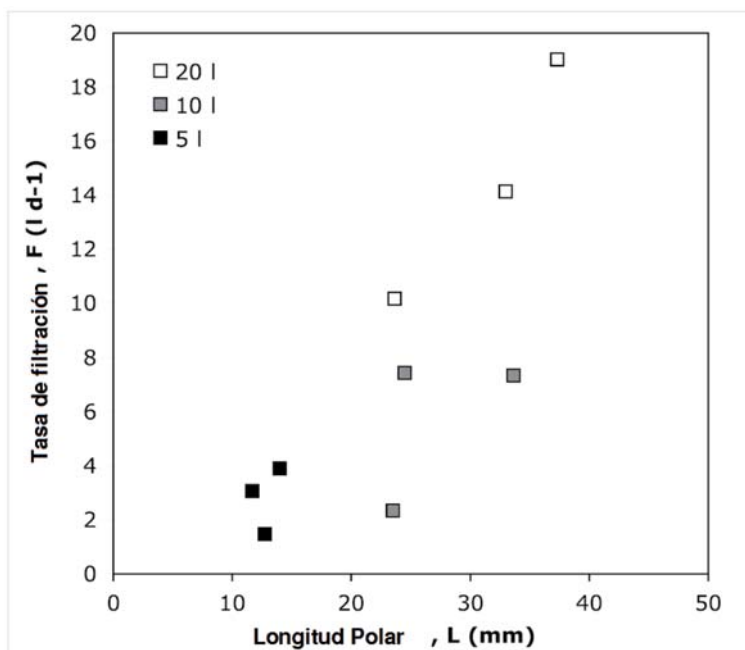


Figura 2.- Filtración (F , $l d^{-1}$) en función de la longitud polar (L , cm) con zooplancton natural como presa (Exp. A). Concentración de presa Nominal = 42 ind l^{-1} . Regresión lineal es la función exponencial: $F = 1,66 L^{1.85}$, $r^2 = 0,86$. Símbolo relleno: 5 L, Símbolo gris: 10 L y Símbolo abierto: 20 L. Debido a que el ratio para ctenóforos mas grandes estaría reducido con el uso de tanques demasiado pequeños, para individuos mayores de 20mm solo se usan para la regresión los valores de los tanques de 20 L.

SENSIBILIDAD A LA TEMPERATURA EN EXPERIMENTOS DE SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO

En el Experimento E, se determinó la influencia de la temperatura, al tener ésta un efecto significativo en la supervivencia de ctenóforos (ANOVA, $F_{(4,10)} = 55,16$, $P < 0,001$). La temperatura más alta empleada (28°C) fue la única condición que produjo una reducción significativa en la supervivencia de individuos (Fig. 3). Tras 20 días, solo el 8% de los ctenóforos sobrevivió a los 28°C. Mientras tanto, en el resto de temperaturas (12, 17,5, 22 y 25°C), la supervivencia fue mayor del 92%, sin diferencias significativas en su totalidad (ANOVA, $F_{(3,8)} = 0,86$, $P = 0,499$).

El crecimiento de ctenóforos durante la primera semana de experimento, fue diferente en relación a la temperatura (ANOVA, $F_{(4,153)} = 11,85$, $P < 0,001$). El valor medio más alto de la tasa de crecimiento fue observado a 22°C, con 0,25 mm d⁻¹, mientras que en la mayoría de organismos se redujo a 28°C con una tasa media de -0,31 mm d⁻¹. El crecimiento medio fue bajo a 12 y 25°C, pero positivo y con un amplio rango de valores, mostrando valores de hasta 1 y 0,8 mm d⁻¹, respectivamente. La mayor variabilidad de temperatura fue observada a 12 y 28°C.

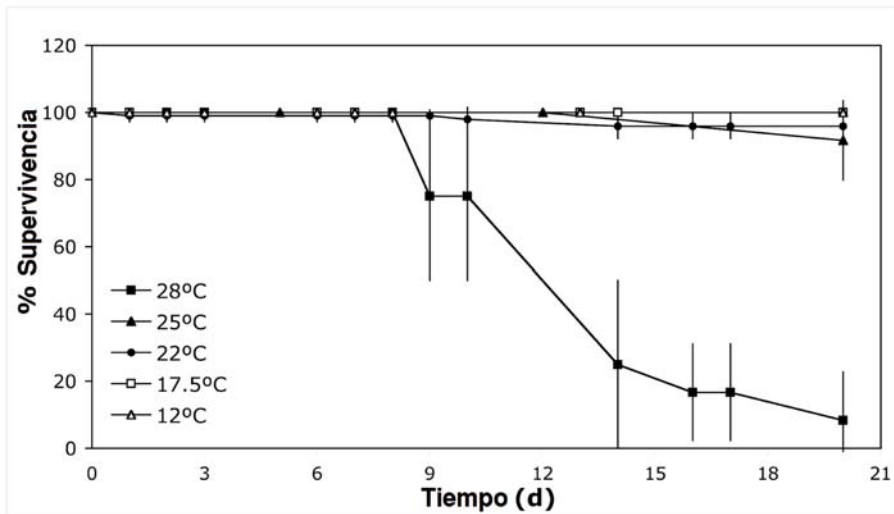


Figura 3.- Supervivencia de ctenóforos (%) a diferentes temperaturas (Exp. E). Cuadrado relleno, Triángulo relleno, Círculo relleno, Cuadrado vacío y Triángulo vacío corresponden a 28, 25, 22, 17,5 y 12°C, respectivamente. Las barras de errores son la desviación estándar de las tres replicas.

SENSIBILIDAD A LA SALINIDAD EN EXPERIMENTOS DE SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO

La supervivencia de ctenóforos mostró escasa sensibilidad al amplio rango de salinidades del experimento (de 28 a 37), estando en el Experimento F los porcentajes de supervivencia oscilando entre el 100% y 92% (ANOVA, $F_{(4,10)} = 1$, $P = 0,452$). En consecuencia, la salinidad ejercerá poco control en la dinámica poblacional dentro de la bahía de Cádiz.

No obstante, dependiendo de la salinidad hubo diferencias en el crecimiento medido durante la primera semana de experimento, (ANOVA, $F_{(4,83)} = 32,91$, $P < 0,001$). El valor medio más elevado en la tasa de crecimiento, y a su vez con la variabilidad más baja, fue observada en los ctenóforos de 31 de salinidad, con $1,21 \text{ mm d}^{-1}$. Los organismos menguaron en la menor salinidad comprobada (28), con una tasa de $-0,24 \text{ mm d}^{-1}$.

EXPERIMENTO DE RESPIRACIÓN Y EXCRECIÓN

Durante el Experimento G, la concentración de oxígeno en los tanques llegó a ser un 90-92% del nivel inicial. La respiración por individuo osciló entre $0,0003 - 0,01 \text{ mg mg O}_2 \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Fig. 4a) o $0,006-0,61 \text{ } \mu\text{g átomos O}_2 \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$. La media del peso-tasa respiración específica de *B. vitrea* larvario (todos los especímenes menores de 1,9cm de longitud polar) fue $0,32 \pm 0,33 \text{ mg O}_2 \text{ g DW}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($N = 19$).

La tasa de excreción de NH_4^+ y PO_4^{3-} por individuo de *B. vitrea* larvario osciló entre 0,01 a $0,12 \text{ } \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $0,003-0,016 \text{ } \mu\text{mol PO}_3^- \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figs. 4B, C; Experimento G). La media peso- tasa excreción específica fue de $5,0 \pm 4,4$ y $0,45 \pm 0,30 \text{ } \mu\text{mol g DW}^{-1} \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($N = 18$) para NH_4^+ y PO_3^- , respectivamente. El ratio $\text{NH}_4^+:\text{PO}_4^{3-}$ en la excreción fue $11,0 \pm 10,2$ ($N = 18$), generalmente bajo la estequiometría de Redfield de 16N:1P, no estableciéndose una relación con el peso.

La respiración y tasa de excreción de PO_4^{3-} incrementaron significativamente con el peso corporal seco (g DW) denotado por el valor de b (O_2 : $b = 0,70$, $P < 0,05$; y PO_4^{3-} : $b = 0,79$, $P < 0,05$; Figs. 4a, . La tasa de excreción de NH_4^+ también mostró una relación similar con la masa corporal, pero esta relación no fue significativa ($b = 0,64$, $r^2=0,16$; Fig. 4b). Estos valores de b indicaron una fuerte influencia del tamaño en el peso-metabolismo específico de *B. vitrea*, tal y como se observa por clases de tamaño (Fig. 4d,e, f). Este patrón sugirió un descenso en la tasa peso- metabolismo específico con un incremento en el tamaño corporal. Diferencias entre las clases agrupadas por tamaño fueron significativas para la liberación de

amonio (ANOVA, $F_{(2,15)} = 4,20$, $P < 0,05$; Fig. 4e) y para fosfato (ANOVA, $F_{(2,15)} = 4,52$, $P < 0,05$; Fig. 4f). Sin embargo, las tasas de respiración no fueron significativas agrupándolas por tamaños (ANOVA, $F_{(2,16)} = 1,14$, $P = 0,345$; Fig. 4d).

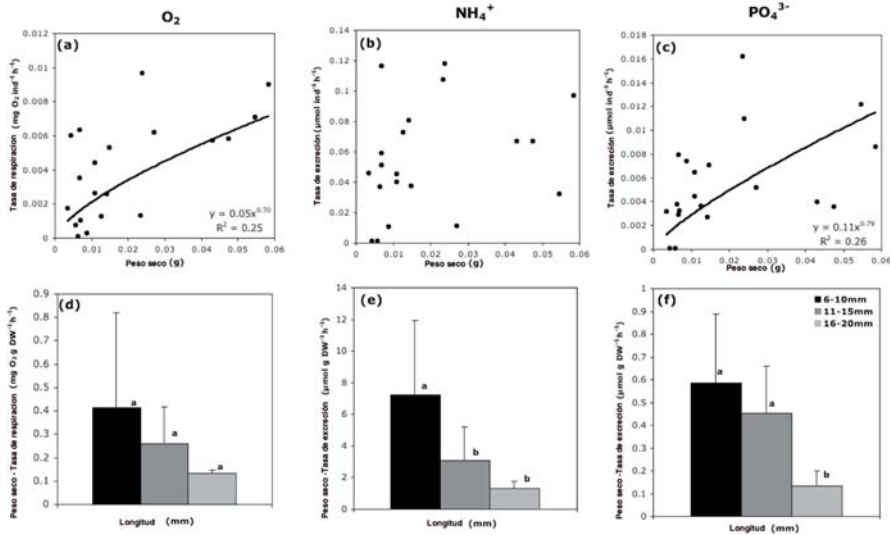


Figura 4.- Tasa de respiración ($mg O_2 \text{ ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$) (a) y tasa de excreción ($\mu\text{mol ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$) de (b) amonio (NH_4^+) y (c) fosfato (PO_4^{3-}) de ctenóforos individualmente (Exp. G). Media del peso-específico (d) tasas de respiración ($mg O_2 \text{ g DW}^{-1} \text{ d}^{-1}$) y tasas de excreción ($\mu\text{mol g DW}^{-1} \text{ d}^{-1}$) de (e) NH_4^+ y (f) PO_4^{3-} agrupados por tamaños. Tamaño de la muestra (n) para cada grupo agrupados por tamaño es 12 (longitud 6-10 mm), 4 (longitud 11-15 mm) y 4 (longitud 16-20 mm). Barras de error corresponden a la desviación estándar. Tasa metabólica con diferentes letras son significativamente diferentes (ANOVA, $P < 0,05$).

DISCUSIÓN

Estudiando la dinámica poblacional del ctenóforo *Bolinopsis vitrea* en una estación costera de la bahía de Cádiz, reveló que la población de este ctenóforo fluctuaba a lo largo de todo el año, acorde a las variables medioambientales tales como temperatura y salinidad. *B. vitrea* estuvo ausente durante el verano e invierno, presentando picos en primavera, y con menor extensión, también en otoño (Fig. 1). Este patrón de variabilidad es el opuesto al de

otros ctenóforos de la orden Lobata, como es *Mnemiopsis leidy*, en el estuario del río York (Chesapeake Bay), para los cuales una alta biomasa es observada a comienzos del verano (mayo-junio) y meses de mediados de invierno (diciembre-febrero) (Condon and Steinberg, 2008). Las medidas de longitud mostraron que los *Bolinopsis vitrea* encontrados en la bahía de Cádiz a mediados de julio eran mayores que los especímenes muestreados semanas previas. Considerando que estos ctenóforos pertenecen a la misma población, el crecimiento somático es un indicador que había disponibilidad suficiente de presas (Fig. 1). El posterior descenso en la abundancia total de ctenóforos fue probablemente debido a la mortalidad parcial de la población tras la exposición a temperaturas superiores a 28°C.

Basado en los experimentos de laboratorio, las diferentes variables medioambientales tuvieron diferentes efectos en la supervivencia de *B.vitrea*, con un efecto mayor por parte de la temperatura que de la salinidad. Temperaturas de 28°C (típicas en meses veraniegos en esta zona) fueron críticas para la supervivencia del organismo (Fig. 3). Además, *B.vitrea* mostró las con mejores tasas de crecimiento entre los 17,5 y los 25°C la temperatura.

Esta es la vez primera que se ha determinado el papel de la temperatura en la supervivencia, así como en la tasa de crecimiento de *B.vitrea*, en particular para la orden Lobata. Este variable ambiental, temperatura, también ha sido encontrada como el principal condicionante en dinámicas poblacionales de otras especies gelatinosas, como el escifozoo *Cotylorhiza tuberculata* (Prieto *et al.*, 2010) o el ctenóforo *Mnemiopsis leidy* (Kremer, 1994). Considerando el incremento previsto para las temperaturas de primavera y verano de 3-4 °C en esta latitud (Giorgi and Lionello, 2008), es esperado pues que estos organismos estarán afectados negativamente en los escenarios futuros (IPCC, 2007).

Aunque la salinidad observada en campo fue raramente inferior a las condiciones comprobadas en laboratorio, los resultados de supervivencia sugieren que esta variable medioambiental no es crítica en la dinámica poblacional.

Bolinopsis vitrea puede mantener los tentáculos hasta que su tamaño es cercano a los 20 mm de longitud (Kremer *et al.*, 1986a), y de acuerdo a nuestras observaciones de laboratorio, referentes a la fecundidad de *B.vitrea*, estos no se reproducen hasta que alcanzan longitudes iguales o mayores a 21 mm, un índice similar a los de especímenes del Norte del Mar Egeo (Shiganova *et al.*, 2004). En campo, cuando la abundancia de ctenóforos adultos (longitud polar > 20 mm) era superior a 5 ind m⁻³, la biomasa de zooplancton era menor (Fig. 1). Esto puede ser explicado por los efecto de la depredación de ctenóforos de mayor tamaño, como se mostró en los experimentos de laboratorio. Efectivamente, la tasa de filtración de *B.vitrea* con zooplancton natural mostró una estrecha relación con respecto al tamaño ($p < 0,001$), con un exponente cercano a 2 (Fig. 2), igual que el presentado por otros ctenóforos como

Pleurobrachia pileus (Moller *et al.*, 2010). No obstante, incluso si la tasa de filtración de zooplancton natural de este ctenóforo fue alta a 22°C, estas fueron entre 3 y 6 veces menores que para aquellos *Mnemiopsis leidyi* de igual tamaño a 24-25°C (Shiganova *et al.*, 2004). Además, las tasas de alimentación de huevos de peces por *B.vitrea* son 20 veces menores que las encontradas para *M.leidyi* (Cowan and Houde, 1991). Los resultados presentados mostraron que *B.vitrea* no se alimenta de pequeñas larvas de peces, o medusas pequeñas, mientras que *M.leidyi* ha mostrado hacerlo (Purcell *et al.*, 2001). Por lo tanto, aunque pertenezcan a la misma orden, el impacto en el mismo nivel trófico (competencia por alimento), y en otros niveles tróficos superiores (depredación de huevos de peces y larvas) es sutilmente inferior para *B.vitrea* que para *M.leidyi*.

La presencia de blooms de ctenóforos también tiene implicaciones en el flujo de carbono a lo largo de la cadena trófica, tal como ha sido descrito por Condon *et al.* (2011) en su hipótesis de “*jelly carbon shunt*”. En este sentido, las tasas de respiración y excreción de *B.vitrea*, enmarcadas en el contexto de su dinámica poblacional observada durante el año del presente estudio, podrían favorecer la producción bacteriana y de fitoplancton. Como normalmente ocurre con otros grupos de zoopláncton gelatinoso (Pitt *et al.*, 2009), P es excretado por *Bolinopsis vitrea* en pequeñas cantidades en comparación con N.

De hecho, en el caso del presente estudio, el peso-excreción específica de N fue mayor que el peso-excreción específica de P, con un índice molar N:P de excreción inorgánica rondando de 1,4 – 40 (media= 11,0). Comparando la media del peso-tasa específica de excreción de otros organismos gelatinosos, las tasas de excreción de *B.vitrea* son ligeramente más altas que aquellas de *M.leidyi* ($4,9 \pm 5,5 \mu\text{mol g DW}^{-1} \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $0,3 \pm 0,3 \mu\text{mol g DW}^{-1} \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para NH_4^+ y PO_3^- , respectivamente) y dobles que las del escifozoo *Chrysaora quinquecirrha* ($2,5 \pm 2,5 \mu\text{mol g DW}^{-1} \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $0,2 \pm 0,1 \mu\text{mol g DW}^{-1} \text{ ind}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para NH_4^+ y PO_3^- , respectivamente), ambos medidos en la bahía de Chesapeake a lo largo de un amplio rango de temperaturas (Condon *et al.*, 2010). Por lo tanto, el impacto de *B.vitrea* en los ciclos de nitrógeno y fosforo y la producción del plancton es similar comparada con *M.leidyi*, y doble comparada con *C.quinquecirrha*. Las excreciones de zooplancton gelatinoso, pueden incrementar en gran manera la producción bacteriana y de fitoplancton (West *et al.*, 2009; Tinta *et al.*, 2012).

El peso-tasa específica de respiración medido para *B.vitrea* en este estudio, está en el mismo rango que para los especímenes recién capturados de la misma especie en Bahamas (Kremer *et al.*, 1986a).

CONCLUSIONES

La tasa de reproducción de *Bolinopsis vitrea* osciló entre 21-181 huevos d⁻¹, para especímenes más grandes de 31mm de longitud total, lo cual es de la misma magnitud que para otras especies ya medidas en el Norte del Mar Egeo, pero es mucho menor (4 veces) que la tasa de reproducción de *M.leidy* (Shiganova *et al.*, 2004). Esta tasa de reproducción menor, junto con la menor tasa de ingestión de *B.vitrea* comparada con *M.leidy*, puede explicar el por qué esta especie tiene un menor impacto en la cadena trófica. Sin embargo, su elevada tasa metabólica (tanto en excreción como respiración) tiene un relevante impacto biogeoquímico en un ecosistema donde ellos son el único plancton gelatinoso. El control medioambiental perjudicial ejercido por la temperatura, donde altas temperaturas implican una menor supervivencia de ctenóforos y su crecimiento es menor, y considerando futuros escenarios de calentamiento global (IPCC 2007), proyecta un futuro incierto para esta especie, con concomitantes consecuencias para el sistema pelágico en el cual se desarrollan.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a A. Moreno, J.F. Martínez, y G. Navarro por su apoyo en campo, a M. Ferrer y M. Arjonilla por su asistencia técnica en los análisis de oxígeno disuelto y nutrientes, respectivamente. Los datos de CTD de salinidad para compararlos con otra estación cercana fueron gentilmente proporcionados por M. Saavedra del IFAPA “El Toruño”. Agradecemos al Dr.H.Mianzan y Dr.A.Malej por su asistencia en la identificación taxonómica de ctenóforos. Este trabajo ha sido financiado por el MIC Español Plan Nacional Proyecto JELLY-PHYS (CTM2011-22596), Consejería de Ciencia, Innovación y Empresa Junta de Andalucía (Observatorio del Estrecho and PO7-RNM-02976), E.U. MarinERA Proyecto MedEX (CTM2008-04036-E/MAR) y PERSEUS (FP7-287600). L.P. está financiada por el Programa Ramón y Cajal del MIC de España y D.M por el programa JAE-Doc (#X0SC000087) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

BIBLIOGRAFÍA

Condon R.H., Steinberg, D.K. 2008. Development, biological regulation, and fate of

- ctenophore blooms in the York River estuary, Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series* 369: 153-168.
- Condon R.H., Steinberg, D.K., Bronk, D.A. 2010. Production of dissolved organic matter and inorganic nutrients by gelatinous zooplankton in the York River estuary, Chesapeake Bay. *Journal of Plankton Research* 32 (2): 153-170.
- Condon R.H., Steinberg, D.K., Del Giorgio, P.A., Bouvier, T.C., Bronk, D.A., Graham, W.M., Ducklow, H.W. 2011. Jellyfish blooms result in a major microbial respiratory sink of carbon in marine systems. *Proceedings of the National Academy of Science* 108: 10225-10230.
- Cowan, J.H. Jr, Houde, E.D. 1993. Size-dependent predation on marine fish larvae by ctenophores, scyphomedusae and planktivorous fish. *Fisheries and Oceanography* 1: 113-126.
- Giorgi, F., Lionello, P. 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and Planetary Change* 63: 90-104.
- Hamer, H.H., Malzahn, A.M., Boersma, M. 2011. The invasive ctenophore *Mnemiopsis leidyi*: a threat to fish recruitment in the North Sea? *Journal of Plankton Research* 33: 137-144.
- Harbison, G.R., Madin, L.P., Swanberg, N.R. 1978. On the natural history and distribution of oceanic ctenophores. *Deep Sea Research* 25: 233-256.
- IPCC, 2007. Climate Change 2007. *Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds Core Writing Team, R.K. Pachauri & A. Reisinger). IPCC, Geneva.
- Javidpour, J., Molinero, J.C., Lehmann, A., Hansen, T., Sommer, U. 2009. Annual assessment of the predation of *Mnemiopsis leidyi* in a new invaded environment, the Kiel Fjord (Western Baltic Sea): a matter of concern. *Journal of Plankton Research* 31: 729-738.
- Kremer, P., Canino, M.F., Gilmer R.W. 1986a. Metabolism of epipelagic tropical ctenophores. *Marine Biology* 90: 403-412.
- Kremer, P., Reeve, M.R., Syms, M. A. 1986b. The nutritional ecology of the ctenophore *Bolinopsis vitrea*: comparisons with *Mnemiopsis mccradyi* from the same region. *Journal of Plankton Research* 8 (6): 1197-1208.
- Kremer, P. 1994. Patterns of abundance for *Mnemiopsis* in U.S. coastal waters: a comparative overview. *ICES Journal of Marine Science* 51(4): 347-354.
- Lucic, D., Pestoric, B., Malej, A., Lopez-Lopez, L., Drakulovic, D., Onofri, V., Miloslavic, M., Gangai, B., Onofri, I., Benovic, A. 2012. Mass occurrence of the ctenophore *Bolinopsis vitrea* (L. Agassiz, 1860) in the nearshore southern Adriatic Sea (Kotor

- Bay, Montenegro). *Environmental Monitoring and Assessment* 184: 4777-4785.
- Mills, E.C., Pugh, R.P., Harbison, R.G., Haddock, S.H.D. 1996. Medusae, siphonophores and ctenophores of the Alboran Sea, South western Mediterranean. *Scientia Marina* 60 (1): 145-163
- Møller, L.F., Martinez Canon, J., Tiselius, P. 2010. Bioenergetics and growth in the ctenophore *Pleurobrachia pileus*. *Hydrobiologia* 645: 167-178.
- Nemazie, D.A., Purcell, J.E., Glibert, P. M. 1993. Ammonium excretion by gelatinous zooplankton and their contribution to the ammonium requirements of microplankton in Chesapeake Bay. *Marine Biology* 116: 451-458.
- Oliveira, O.M.P., Mianzan, H., Migotto, A.E., Marques, A.C. 2007. Identification key for the ctenophores from Brazilian coast. *Biota Neotropica* 7: 341-350.
- Omori, M., Ikeda, T. 1984. *The Methods in Marine Zooplankton Ecology*. John Wiley, New York. 322 pp.
- Pitt, K.A., Welsh, D.T., Condon, R.H. 2009. Influence of jellyfish blooms on carbon, nitrogen and phosphorus cycling and plankton production. *Hydrobiologia* 616: 133-149.
- Prieto, L., Astorga, D., Navarro, G., Ruiz, J. 2010. Environmental control of phase transition and polyp survival of a massive-outbreaker jellyfish. *PLoS One* 5: e13793.
- Purcell, J.E. 2009. Extension of methods for jellyfish and ctenophore trophic ecology to large-scale research. *Hydrobiologia* 616: 23-50.
- Purcell, J.E. 2012. Jellyfish and Ctenophore Blooms Coincide with Human Proliferations and Environmental Perturbations. *Annual Review of Marine Science* 4: 209-235.
- Purcell, J.E., Fuentes, V.L., Atienza, D., Tilves, U., Astorga, D., Kawahara, M., Hays, G.C. 2010. Use of respiration rates of scyphozoan jellyfish to estimate their effects on the food web. *Hydrobiologia* 645: 135-152.
- Purcell, J.E., Shiganova, T.A., Decker, M.B., Houde, E.D. 2001. The ctenophore *Mnemiopsis* in native and exotic habitats: US estuaries versus the Black Sea basin. *Hydrobiologia* 451: 145-176.
- Purcell, J.E., Uye, S.I., Lo, W.T. 2007. Anthropogenic causes of jellyfish blooms and direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series* 350: 153-174.
- Roohi, A., Zulfigar, Y., Kideys, A., Shau Hwai, A.T., Khanari, A.G., Eker-Develi, E. 2008. Impact of a new invader ctenophore *Mnemiopsis leidyi* on the zooplankton of the southern Caspian Sea, *Marine Ecology* 29: 421-434.
- Shiganova, T.A., Malej, A. 2009. Native and non-native ctenophores in the Gulf of Trieste, northern Adriatic Sea. *Journal of Plankton Research* 31 (1): 61-71.
- Shiganova, T.A., Christou, E.D., Bulgakova, J.V., Siokou-Frangou, I., Zervoudaki, S.,

Siapatis, A. 2004. Study on the distribution and biology of the invader *M. leidyi* in the northern Aegean Sea, comparison with indigenous species *Bolinopsis vitrea*. In: Dumont, H., Shiganova, T., Tinta, T., Kogovsek, T., Malej, A., Turk, V. (2012) Jellyfish modulate bacterial dynamic and community structure. *PLoS One* 7: e39274.

SESIÓN DE ACUICULTURA AMERICANA

Dña. Chita Guisado. Universidad de Valparaíso, Chile.

D. Leoncio Ruiz. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

D. Antonio Vélez. Fundación Chile, Santiago, Chile.

D. Miguel Jover. Universidad Politécnica de Valencia, España.

Dña. Lessi Catacora. Colegio de Ingenieros del Perú.

Estado de la acuicultura dulceacuícola en Perú

Leoncio Ruiz Ríos

Facultad de Pesquería. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima- Perú

RESUMEN

La pesquería es una actividad que se ha desarrollado en el Perú desde tiempos del incanato como principal fuente de alimento a la población. Tuvo un declive durante la época de la conquista y la era republicana, volviendo a resurgir en el siglo pasado como proveedora de harina de pescado al mercado mundial. La Acuicultura surge en forma incipiente en la primera mitad del siglo pasado con trucha que fue introducida con fines deportivos por mineros europeos. Posteriormente se cultivaron los langostinos y la concha de abanico, ambos marinos. En los años 90 pasados empiezan a explotarse otras especies, nativas (amazónicas principalmente), a las que se une la tilapia en la zona tropical. El estado peruano apoya la actividad mediante la promulgación de leyes que la favorecen e incentivan. Otras instituciones de investigación y promoción coadyuva a su desarrollo adaptando tecnologías y desarrollando técnicas propias. En la última década la producción de la acuicultura peruana ha crecido en promedio, 30% anual y se espera se incremente en los años siguientes.

INTRODUCCION

La industria pesquera en el Perú es una actividad económica importante que se ha desarrollado a través del tiempo a base de la extracción de la anchoveta (*Engraulis ringens* Jennins 1842). El año 2010 se logró un desembarque de productos hidrobiológicos en un volumen de 4.282 miles de TM de los cuales solo se destinó al Consumo Humano Directo 952.4 TM.

En el Perú antiguo la pesquería también fue importante por su aporte a la nutrición y alimentación de la población. Prueba de ello son los restos arqueológicos relacionados con la pesca en culturas tan antiguas como Caral en la costa peruana (4.500-4.800 AC). La ciudad más antigua de América.

Durante la conquista se produce un cambio radical en la relación entre el poblador y el mar impidiéndose el libre tránsito de los pescadores en la zona costera dando inicio a la destrucción de la estructura social prehispánica. A partir de ese momento se prioriza la minería y la agricultura como sustento económico de la época colonial, hasta la mitad del siglo pasado en la cual vuelve nuevamente a tomar importancia. El Perú asume en liderazgo en la captura de la anchoveta, a partir de la cual se produce la Harina de Pescado, importante *comodity* en el mercado internacional. En el año 1970 se logra el record de captura, llegando a 12 millones de TM. La FAO advierte la posibilidad de estar llegando a la captura máxima permisible y el siguiente año la captura disminuye a 10 millones de TM. En la última década (2001-2010) la producción ha fluctuado entre 8 millones de TM hasta 4.3 millones de TM. Utilizándose casi 77% aproximadamente para el consumo humano indirecto.

La Acuicultura en el Perú empieza a desarrollarse el siglo pasado con la introducción de la trucha (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) en los ríos y lagunas alto andinas para uso deportivo de los mineros provenientes de Europa. Posteriormente se fue introduciendo en las zonas norte y sur del país en las cuales se realiza la crianza en estanques y jaulas en lagos y lagunas. Otras especies fueron los langostinos *Litopeneus vannamei* Boone 1931 y *L. stylirostris* Stimpson 1874 en la costa norte del Perú vecina al Ecuador, principal productor mundial de la especie. Otra especie marina fue la concha de abanico, *Argopecten purpuratus* Lamarck 1819 que continúa siendo la especie que contribuye con el mayor aporte de la producción acuícola peruana. El año 2011 la producción total de recursos hidrobiológicos provenientes de la acuicultura fue de 92.200 TM, siendo la concha de abanico la especie que aporta casi el 75% de la producción nacional. Posteriormente se inició la crianza de otras especies de peces como la tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus 1758, el camarón gigante *Macrobrachium rosenbergii* De Man 1879 y peces amazónicos entre los que destacan la gamitana *Colossoma macropomun* Cuvier 1816 y el paiche *Arapaima gigas* Cuvier 1829. En la última década el crecimiento de la acuicultura peruana ha sido del 30% anual desde 6.600 Tm en al año 2000 hasta los 92.200 el 2011. Teniendo aun mayores posibilidades de crecimiento en sus 2,500 Km de zona costera marina y sus casi 12 mil cuerpos de agua distribuidas en sus tres regiones naturales.

ASPECTOS LEGALES

El desarrollo de la Acuicultura en el Perú es responsabilidad de la Dirección Nacional de Acuicultura (DNA) que se encuentra en el Viceministerio de Pesquería y pertenecen al Ministerio de la Producción. En la época del auge de la extracción de la anchoveta existía el Ministerio de Pesquería. Esta dirección es la encargada de dictar los lineamientos de política del sector y las normas legales correspondientes.

La Acuicultura está normada por la Ley 27460- Ley de Promoción y Desarrollo de la Acuicultura (2001) la misma que en sus 6 Títulos y 32 Artículos promueve y regula la actividad en sus diversas formas. Asimismo el 2010 se promulgó el Plan Nacional de Desarrollo Acuícola (DS 001-2010 PRODUCE) formulado a base del diagnóstico situacional y el Plan Estratégico del Sector. La FAO tuvo importante participación en este plan mediante el proyecto TCP/PER 3102. Tiene como principal objetivo incrementar la calidad, productividad y el volumen de producción acuícola comercializado a nivel nacional e internacional, así como elevar la inversión privada en acuicultura. Además favorecer la producción nacional de insumos para la acuicultura; el desarrollo de servicios de formación, capacitación y asistencia técnica para la producción y comercialización y potenciar la investigación, adaptación y transferencia tecnológica en materia de acuicultura

ORGANOS DE APOYO

La Acuicultura recibe un importante sustento técnico y económico de organismos estatales dependientes de los diferentes ministerios.

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) es la institución rectora del Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación Tecnológica en la que participa la Academia, los Institutos de Investigación estatales, organizaciones empresariales, la comunidad y la sociedad civil. Por mandato de la Ley 28030-Ley Marco de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica del Perú se formula el Plan Nacional Estratégico de Ciencia, Tecnología e Innovación para la Competitividad y el Desarrollo Humano 2006-2021. El CONCYTEC en coordinación con los sectores respectivos, está encargado de establecer los requisitos mínimos para la formulación de Programas Nacionales de Ciencia y Tecnología; dentro de estos planes se encuentra el de Acuicultura con un plan de investigaciones que incluye el desarrollo y adaptación de nuevas tecnologías para especies nativas

posicionadas, emergentes y potenciales, junto con la introducción de especies exóticas que sean ambientalmente viables y sostenibles con las condiciones ambientales del país. Además el CONCYTEC financia proyectos de las diferentes áreas de la acuicultura en aguas dulces y marinas.

El Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) es una institución de investigación científica y tecnológica especializada en el uso sostenible de la diversidad biológica amazónica en la que participa el sector público, privado y la sociedad civil. Fue creado por la Ley N°23374, la política de investigación es responsabilidad del Consejo Superior que integran 21 instituciones públicas y privadas comprometidas con el desarrollo de la región. Realiza una importante labor en la investigación, capacitación y extensión en el campo de la Acuicultura Amazónica en el marco de su Programa de Investigación para el uso y Conservación del Agua y sus Recursos (AQUAREC); sus aportes son importantes para el cultivo de las especies amazónicas que cubren aspectos relacionados a la reproducción, genética molecular, nutrición y alimentación y métodos de cultivo. Destacan los estudios en El Paiche (*Arapaima gigas*) especie que se encuentra distribuida en la hoya amazónica e involucra a países vecinos como Brasil, Colombia, Venezuela y Bolivia.

El Instituto del Mar del Perú (IMARPE) realiza investigaciones en diferentes áreas de la pesquería, siendo importante su aporte a la acuicultura marina principalmente. Es una institución que brinda información al sector producción para un mejor conocimiento de los recursos marinos para una producción sostenible y racional. La acuicultura dulceacuícola está involucrada en el cultivo de alimento vivo para larvas de peces y problemas sanitarios en el caso de la trucha. Sus laboratorios también son utilizados para investigaciones sobre biotecnología en acuicultura.

El Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES) fue creado por Decreto Supremo 010-02 PE y depende del Ministerio de la Producción, su principal objetivo es promover, ejecutar y apoyar económicamente a los pescadores artesanales a nivel marítimo y continental, siendo la acuicultura una de las principales áreas de acción. Cuenta con 6 Centros de Acuicultura distribuidas estratégicamente en el país, en las cuales se realiza trabajos experimentales, asistencia y capacitación técnica y genera tecnologías con especies nativas. Las sedes ubicadas en la Costa se orientan a la maricultura, mientras que las de Sierra y región amazónica lo hacen con la trucha y especies nativas tropicales, respectivamente. En los Centros de Selva se producen alevines de las especies nativas, las que son entregadas a los acuicultores a precios promocionales. Con ayuda de la Cooperación Española (AECID) se han elaborado manuales de cultivo de especies dulceacuícolas y marinas.

El Servicio Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES) creado por Ley N° 28559 es la entidad encargada de velar y verificar el cumplimiento de la legislación sanitaria y de calidad en todas las fases de las actividades pesquera y acuícola con la finalidad de proteger la salud de los consumidores y usuarios. Actualmente se encuentra dentro de la organización del Instituto Tecnológico Pesquero (ITP), ambos dependiendo del Ministerio de la Producción. Sin embargo en el último mensaje presidencial (julio 2012) el Presidente de la República anunció la creación de un nuevo SANIPES como organismo técnico especializado adscrito al Ministerio de la Producción, es decir tendrá mayor autonomía administrativa, y lograr una mayor competitividad de nuestros productos pesquero dentro de los cuales se encuentran los provenientes de la acuicultura.

El programa de Financiamiento para la Innovación, la Ciencia y Tecnología (FINCyT) es un programa adscrito a la Presidencia del Consejo de Ministros con aportes monetarios del BID y el Estado Peruano. Tiene como principal objetivo contribuir al incremento de la competitividad del país fortaleciendo las capacidades de investigación e innovación tecnológica con la participación del estado, las empresas y las universidades e institutos de investigación. Una de las áreas prioritarias es la pesca y acuicultura. El financiamiento se orienta básicamente a proyectos de innovación tecnológica e investigación y desarrollo tecnológico presentados solo por empresas individuales o asociadas con otras empresas o universidades. Otro componente importante es el fortalecimiento y creación de capacidades por medio del cual se financian estudios de postgrado para universidades e instituciones de investigación y pasantías y becas de cursos para las empresas. Parte del financiamiento es para fortalecer y articular el Sistema Nacional de Innovación.

Universidades, nacionales y privadas que realizan investigación y formación en la pesquería en general y particularmente en acuicultura. Las Facultades involucradas son de Ingeniería Pesquera, Biología y Medicina Veterinaria y Zootecnia. Entre las Universidades se puede mencionar la Universidad Nacional Mayor de San Marcos que realiza investigaciones en acuicultura amazónica desde la década del 70 del siglo pasado, a través del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura, La Universidad Nacional Agraria La Molina que fue la primera en otorgar el título de Ingeniero Pesquero Piscicultor, Universidad Nacional Federico Villarreal, Universidad de la Amazonía Peruana, Universidad Nacional del Altiplano, Universidad Nacional de Piura, Universidad Nacional de Tumbes, Universidad Técnica del Callao, Universidad Científica del Sur y Universidad Peruana Cayetano Heredia, entre otras.

ACUICULTURA EN EL PERU

El año 2010 el Ministerio de la Producción aprueba el Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura (PNDA) elaborado por la Dirección General de Acuicultura del Despacho viceministerial de Pesquería que sirve de guía para el desarrollo acuícola durante el periodo 2010-2021. Participaron en la elaboración organismos públicos y privados, gobiernos regionales, empresas dedicadas a la actividad con el apoyo de la FAO con el Proyecto TCP/PER/1301 “Estrategia Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Acuicultura en el Perú”. El PNDA tuvo como sustento legal la Ley del Promoción y Desarrollo de la Acuicultura (N° 27460) que la consideraba como un objetivo importante del sector. El PNDA, define la visión que se desea alcanzar en el largo plazo para la acuicultura peruana y la misión del PNDA; asimismo, establece principios y objetivos estratégicos en los cuales se basará su desarrollo y propone lineamientos de estrategia y un plan de acción para su desarrollo y aplicación.

El PNDA determina como Visión que Perú tiene un sector acuícola competitivo y diversificado, económica y socialmente viable y ambientalmente sostenible en el tiempo, que contribuye con la seguridad alimentaria de la población, desarrolla tecnologías de cultivo de nuevas especies y genera aportes importantes en divisas, contando con un sector público y privado dinámico que colabora estrechamente entre sí. Asimismo, determina la Misión de promover la generación de recursos humanos, materiales, tecnológicos y financieros pertinentes, así como los servicios técnicos y condiciones institucionales adecuadas, para facilitar la inversión privada en la producción acuícola y comercialización de productos de la acuicultura en el mercado nacional e internacional.

El PNDA identifica los siguientes objetivos para lograr la Visión y Misión

1. Incrementar la calidad, productividad y el volumen de producción acuícola comercializado a nivel nacional e internacional. Este objetivo está concebido para promover el desarrollo y fortalecimiento del mercado interno y expandir el mercado de exportación de los productos de la acuicultura, así como la calidad y seguridad que demandan los mercados para estos productos.
2. Incrementar la inversión privada en acuicultura. Este objetivo está referido a la promoción de la rentabilidad económica y la competitividad de las empresas acuícolas, a través del apoyo y la capacitación a los acuicultores en temas de organización, gestión empresarial, la ampliación de la frontera acuícola a nivel nacional y promover el mejoramiento de la infraestructura de servicios básicos en zonas de

desarrollo acuícola.

3. Promover la producción nacional de insumos para la acuicultura. Este objetivo consiste en la identificación de elementos estratégicos relacionados con la producción de insumos para la acuicultura, encaminados a lograr un mayor desarrollo de las actividades acuícolas.
4. Promover el desarrollo de servicios de formación, capacitación y asistencia técnica para la producción y comercialización acuícola. Este objetivo consiste en la definición de los servicios de capacitación a fin de generalizar el uso de las buenas prácticas acuícolas, mejorar la capacidad para cumplir con los requerimientos de acceso a los mercados y comercio relacionados con la sanidad, inocuidad y respeto ambiental.
5. Promover el desarrollo de servicios de control sanitario para la producción y comercialización acuícola. Este objetivo, consiste en promover las prácticas de manejo adecuadas y previsiones que aseguren las mejores condiciones de salud de los organismos hidrobiológicos en cultivo. El desarrollo del sector acuícola peruano demanda contar con instrumentos que apoyen a los productores y protejan, de la mejor manera posible, el sano crecimiento de la industria, además de mantenerse en concordancia con las exigencias internacionales sanitarias y de calidad.
6. Promover la investigación y desarrollo, la adaptación y transferencia tecnológica en materia de acuicultura. Este objetivo está orientado a que los esfuerzos de investigación se encaminen de manera prioritaria hacia especies tanto nativas como exóticas que hayan demostrado una rentabilidad económica y sean ambiental y competitivamente adaptables a las condiciones del país.
7. Contar con una estructura organizacional y capacidades humanas adecuadas para una efectiva elaboración, implementación y evaluación de las políticas e instrumentos de política de promoción acuícola. Este objetivo está orientado a fortalecer las capacidades de funcionarios tanto del Gobierno Nacional como de los Gobiernos Regionales en el diseño, implementación y evaluación de políticas para la acuicultura, incluyendo aspectos técnicos, de gestión y de mercado y el fortalecimiento de la organización del sector acuícola en el país.
8. Obtener y usar óptimamente recursos financieros para la promoción de la acuicultura. Este objetivo está orientado a aprovechar de manera adecuada los recursos financieros tanto de origen público como de la cooperación internacional en la promoción, fomento y desarrollo de la acuicultura peruana.

Para lograr estos objetivos se han delineado estrategias, plazos y metas que permitan lograr la Visión del PNDA. Para el año 2015 se ha programado una evaluación de las metas establecida para cada uno de los objetivos a fin de verificar la correcta aplicación del Plan.

ESPECIES CULTIVADAS

El Perú geográficamente tiene tres regiones, Costa, cercana al Océano Pacífico con un clima templado hacia el Sur y cálido en el Norte. La zona de Sierra en la que se encuentra la Cordillera de los Andes con un clima frío y la zona de Selva ubicada en la hoya hidrográfica del río Amazonas. Las tres regiones tienen condiciones climáticas y ambientales diferentes en las que se cultivan peces crustáceos y moluscos.

La producción de la Acuicultura Continental y Marina fue de 92.200 TM el año 2011 por un valor de 379.000 millones de USD. Las principales especies cultivadas son la concha de abanico y langostinos en el ambiente marino y la trucha, tilapia, gamitana y paiche en aguas dulces. La producción de la maricultura ha sido siempre mayor a la continental; para este año 2011 la producción de la maricultura fue de 68.600 TM (52.200 TM de la concha de abanico y 16.300 del langostino) y la dulceacuícola de 23.609 TM, con tendencia en aumento, observada durante la última década y desde el inicio de la acuicultura en el Perú.

ESPECIES DULCEACUICOLAS CULTIVADAS

TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss* **Walbaum 1792**)

Fue la primera especie en ser cultivada en el Perú a mediados del siglo pasado a partir de la introducción de ovas importadas. La producción el año 2011 fue de 20.900 TM de las cuales se destino al consumo interno 17.400 TM y el resto al mercado externo, siendo los principales países de destino Alemania, Portugal y Canadá. El monto total de las exportaciones fue de 8,8 millones de USD.

La trucha es cultivada en estanques de tierra, concreto y fibra de vidrio y en jaulas en la zona alto andina. Inicialmente el centro de producción se localizaba en la Sierra Central (Pasco y Junín) en los últimos años, la actividad se ha desplazado a la Sierra Sur (Puno) que

producía 600 TM el año 2000 hasta 15.500 TM el 2011. En esta región se han instalado las principales empresas relacionadas al cultivo de trucha. Existen centros de producción de ovas y alevinos en la región central y sur que no llegan a cubrir la demanda. Por esta razón se están instalando centros de venta de ovas importadas de USA. Es el cultivo mejor posicionado y en el cual se aplican normas sanitarias y medioambientales para obtener un producto orientado al mercado externo.

TILAPIA (*Oreochromis niloticus* **Linnaeus 1758**)

La tilapia (*Tilapia rendalli* Boulanger 1896) fue introducida al país en los años 60 para ser utilizada como pez forraje para el paiche (*Arapaima gigas* Cuvier 1829). En 1980 se introdujeron otras especies dentro de las cuales estaba la tilapia nilotica, inicialmente con fines de investigación y crianza para abastecer de pescado a poblaciones de menores recursos y posteriormente con fines comerciales. Por sus características bioecológicas las zonas a las que mejor se adaptaron fueron la costa norte y selva tropical. Se cultiva en estanques y grandes reservorios de agua utilizadas para la agricultura y la generación de energía. A fin de mejorar la producción el año 1997 se introdujo la tilapia roja *Oreochromis* spp., una línea trabajada genéticamente y con mejores condiciones de adaptación y rendimiento en cultivo. En la última década se ha observado un crecimiento notable desde las 46 TM en el año 2000 hasta las 2.400 TM el 2011. Inicialmente el mercado local no lo aceptaba pero en los últimos años se ha incrementado la demanda en sus formas fresco y en filete. El producto congelado se exporta a Italia y USA principalmente y las exportaciones suman 1.200 millones de USD.

GAMITANA (*Colossoma macropomum* **Cuvier 1918**)

Es una especie ampliamente distribuida en la Hoya Amazónica y del Orinoco, se cultiva en Perú, Colombia, Brasil, Venezuela y Bolivia. En el ambiente natural pueden hallarse ejemplares de 90 cm de longitud y un peso de 30 Kg, es un pez muy bien aceptado por las poblaciones amazónicas. Además de su ambiente natural, se ha adaptado a la zona costera norte. Se cultiva en estanques de tierra y en jaulas y puede alcanzar un peso de 1 Kg en un año de crianza. Es la especie más consumida en la región y recientemente ha empezado a comercializarse en Lima, aunque en volúmenes mínimos. El año 2000 la producción fue de 14 TM llegando en año 2011 a 522 TM. Su reproducción es inducida por hipofisación y hormonas, obteniéndose alevinos que no llegan a satisfacer aún la demanda. Varias instituciones como el IIAP, FONDEPES y los Gobiernos Regionales producen y vende alevinos a precios promocionales. Empresas privadas están produciendo alimento peletizado con resultados alentadores.

PAICHE (*Arapaima gigas* Cuvier 1829)

Es la especie más preciada en el mercado local y externo. Se incluye en el Apéndice II del CITES y puede ser comercializada bajo medidas de control. Es el pez de agua dulce más grande y en el medio natural se pueden observar ejemplares 3 metros y 250 kg de peso; sin embargo, el exceso de captura no permite obtener estos tamaños en los ríos amazónicos. Se cultiva principalmente en la región amazónica y hace algunos años en la costa norte por su clima similar a la amazonia. En cultivo se pueden obtener ejemplares de 10 Kg en un año o 15-20Kg en 18 meses, facilita su crianza por tener respiración mixta y aceptar alimento peletizado. Se cultivan principalmente en estanques de tierra y recientemente en jaulas a las cuales se han adaptado sin problemas. El principal problema es el abastecimiento de alevinos. La fecundidad es baja y no se ha desarrollado un sistema de incubación artificial de los huevos. En el año 2011 se produjeron más de 400 TM de las cuales se exportaron una mínima cantidad a USA, Francia y España.

PACO (*Piaractus brachypomus* Cuvier 1817)

Se encuentra también en Colombia, Venezuela, Brasil y Bolivia. Comparte el mismo hábitat que la Gamitana aunque su desarrollo y madurez sexual es menor. Especie rústica se adapta fácilmente al cultivo en estanques con otras especies y en cultivo asociado. El IIAP, FONDEPES y los Gobiernos Regionales de la zona proveen de alevinos a precios promocionales. La técnica de inducción de la reproducción y mantenimiento de estadios primarios es conocida y fácil de adaptarse a los diferentes ambientes. El consumo en el país es limitado a la región amazónica, aunque recientemente ha sido introducida en la capital y otras ciudades del país, el cultivo también esta localizado en la misma región y la zona selvática de la Región Cuzco. El año 2011 la producción nacional fue de 130 TM. En los últimos años se realizan trabajos de hibridación con la Gamitana obteniéndose la Pacotana y Gamipaco, cruces con los cuales se busca aprovechar las características de cultivo y crecimiento de ambas especies.

BOQUICHICO (*Prochilodus nigricans* Spinx & Agassiz 1829)

Esta especie se encuentra ampliamente distribuida en la hoya amazónica siendo la especie de mayor consumo popular. Se ha adaptado a las condiciones de cultivo y las técnicas de reproducción artificial permiten disponer de alevinos para la crianza en estanques, madura sexualmente en estanques al año de edad. Se adapta fácilmente al cultivo con otras especies aprovechando el alimento natural ya que no acepta el alimento artificial. En el medio natural se puede capturar ejemplares de 1.5 a 2 kg. En el año 2011 se capturaron 15 TM consumidas en las mismas regiones que fueron cultivadas.

PECES ORNAMENTALES

La Amazonía peruana es una de las principales zonas de producción de peces ornamentales; industria que a nivel mundial significa un movimiento económico cercano a los 1.000 millones de USD. La principal región es Iquitos, donde se encuentran las principales empresas exportadoras que son aproximadamente 40, con diferentes niveles de manejo técnico. Algunas han logrado certificación internacional y exportan a Europa, USA y Japón principalmente.

Las especies utilizadas como ornamentales son numerosas y se calcula unas 300, incluyendo algunas especies cultivadas comercialmente que en estadio de alevinos son utilizadas como ornamentales como el Paiche (*Arapaima gigas* Cuvier 1829), la arahuana (*Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier 1829), el acarahuazu (*Astronotus acellatus* Agassiz 1831) y la familia de los loricariidae o bagres amazónicos. La mayor parte de estos peces se extraen de los ríos y lagos, y se mantienen en estanques hasta su exportación. La mortalidad es elevada entre esta etapa y la venta minorista (60-70%), aunque es necesario reconocer que se están realizando mejoras en el manipuleo y tratamiento médico. No podemos afirmar que es un cultivo acuícola, pero la tendencia es cerrar el ciclo desde la reproducción en cautiverio hasta la venta, como lo hacen países del sudeste asiático utilizando como material genético nuestras especies.

Potencial Acuícola de Iberoamérica

Jover¹ M., Cárdenas² S.

¹Grupo de Acuicultura y Biodiversidad. Universitat Politècnica de Valencia. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España.

²IFAPA Centro *El Toruño*. Apdo 16. 1500 Puerto Santa María, España.

mjover@dca.upv.es, salvador.cardenas.rojas@juntadeandalucia.es

RESUMEN

La producción acuícola de Iberoamérica durante el año 2010 fue de 1,9 millones de toneladas (Mt) que suponen un 2,5 % del total mundial. Las 5 principales especies producidas en 2010 fueron el camarón patiblanco (*Litopenaeus vannamei*) 491 mil t, trucha arcoiris (*Oncorhynchus mikiss*) 250 mil t, chorito (*Mytilus chilensis*) 221 mil t, tilapia (*Oreochromis* spp.) 207 mil t y salmón (*Salmo salar*) 123 mil t, que suponen un 66 % de la producción total de la región. Los 5 principales países productores supusieron un 87 % de la producción, Chile con 713 mil t, Brasil con 480 mil t, Ecuador con 272 mil t, México con 126 mil t y Perú con 89 mil t.

El consumo *per cápita* de pescado en Iberoamérica es el más bajo del mundo, 9,9 kg/persona/año, a excepción de los 9,1 de África. Ello explica, en gran parte, la elevada exportación de productos pesqueros (captura y acuicultura) de Iberoamérica, 2,4 Mt a América del Norte, 3,6 Mt a Asia y 4,1 Mt a Europa. En el caso de la acuicultura, la mayor parte de la producción de las 5 principales especies se exporta a Asia, EEUU y Europa.

La gran cantidad de recursos disponibles en Iberoamérica (diversidad de especies, agua continental y marina, ingredientes para piensos, personal, etc.) permitiría un incremento claro de la producción acuícola, que debería estar basado en la demanda de los mercados y en la posibilidad de uso de los recursos. En base al incremento de la

población y el aumento del consumo *per cápita*, se espera que para el 2030 se requieran 6 millones de toneladas de pescado, y dada la situación de la pesca, deberían ser proporcionadas por la acuicultura.

Para este incremento de producción se necesitarían entre 8.000 y 15.000 millones de alevines, y considerando un factor de conversión de alimento (FCR) medio de 1,5 se requerirían 9 Mt de alimento balanceado y del orden de 450 mil t de harinas de pescado, 3.375 mil t de concentrados proteicos vegetales y 3.375 mil t de cereales. Asimismo, se requerirían unas 2.500 mil hectáreas de estanques de producción semi-extensiva (2.500 kg/Ha) y 500 km de costa.

PALABRAS CLAVE

Consumo pescado, piensos balanceados, alevines, espacio.

INTRODUCCIÓN

La elección del título del presente trabajo, presentado en Cádiz durante el V FIRMA Cádiz 2012 en el año en el que se cumple el 200 Aniversario de la Constitución Española de 1812, responde a un sincero convencimiento de los autores de las grandes posibilidades de futuro de la acuicultura en Iberoamérica, que creará riqueza para los productores y proporcionará proteínas saludables a la población.

Ambos autores han estado en diferentes países de Iberoamérica (Venezuela, Nicaragua, Colombia, Argentina, Ecuador, Chile, México, Perú) y han comprobado sobre el terreno la gran riqueza en recursos naturales y las grandes posibilidades que existen para la producción acuícola en el continente, por lo que este trabajo intenta despertar ilusión en los científicos, técnicos y empresarios para que apuesten por esta actividad y también en los gobiernos, para sean proactivos y apoyen el desarrollo de una acuicultura sostenible en sus tres pilares básicos, el ambiental, el social y el económico, pues como se expondrá seguidamente existe una demanda creciente que abre grandes posibilidades empresariales.

MATERIAL Y MÉTODOS

En base a las estadísticas de producción acuícola, población y consumo en las diferentes regiones de Iberoamérica, se estimaron las necesidades de pescado en el futuro y se analizaron los principales recursos para suministrarlo. Para ello se han utilizado los informes de FAO (2011) y OLDEPESCA (2012), además de diversos trabajos científicos relacionados en la bibliografía.

RESULTADOS

La producción acuícola actual del continente americano es de 2,52 Mt, de los que 1,93 Mt corresponden al subcontinente Iberoamericano (1,66 Mt a América del Sur, 0,23 Mt a América Central y 0,04 Mt al Caribe), siendo similar a la producción europea, de unos 2.33 Mt, pero ambas están muy lejos de la producción de Asia, que con 62,7 Mt supone el 91,5% del total mundial (OLDEPESCA, 2012).

Mientras que las capturas pesqueras de la zona, estabilizadas en torno a 20 Mt en el periodo 1999-2005, han sufrido un continuado descenso hasta unos 12 Mt en 2010, la producción acuícola se ha incrementado claramente desde el año 1988, pasando de unas 0,2 Mt a 1,9 Mt en el 2010. Los principales países productores son Chile, Brasil y Ecuador, con un 76% de la producción acuícola total (Tabla I).

Tabla I.- Principales países productores de Iberoamérica en 2010 (OLDEPESCA, 2012).

PAIS	t (x 1.000)	%
Chile	713	37
Brasil	480	25
Ecuador	272	14
México	126	7
Perú	89	5
Resto	252	13
TOTAL	1932	100

Las cinco especies con mayor producción son el camarón patiblanco (*Parapenaeus vannamei*), la trucha arco iris (*Oncorhynchus mikiss*), el chorito (*Mytilus chilensis*), las tilapias (*Oreochromis* spp.), el salmón Atlántico (*Salmo salar*) y plateado (*Oncorhynchus kisutch*), cuyas producciones suponen un 72% del total (Tabla II).

Tabla II.- Principales especies acuícolas producidas en Iberoamérica en 2010 (OLDEPESCA, 2012).

ESPECIE	t (x 1.000)	%
Camarón patiblanco	491	25
Trucha arco-iris	251	13
Chorito	221	11
Tilapia	207	11
Salmón Atlántico	123	6
Salmón Plateado	116	6
Resto	532	28
TOTAL	1932	100

La producción del salmón en el año 2010 fue muy atípica, con una gran reducción respecto a años anteriores, por problemas sanitarios, pero se espera una clara recuperación en los años futuros (Fig. 1).

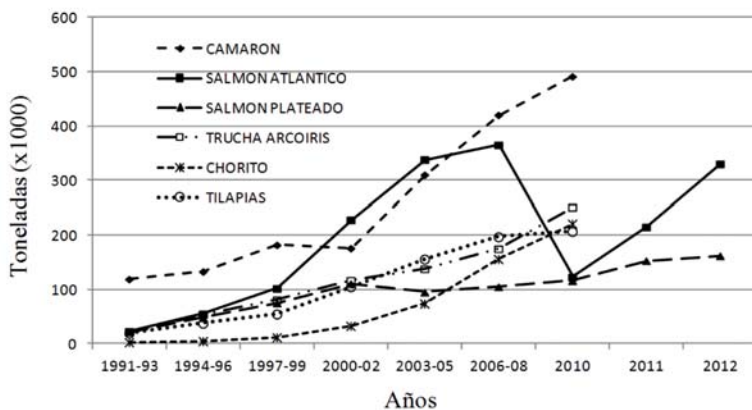


Figura 1.- Evolución de las principales producciones acuícolas de Iberoamérica en el periodo 1991-2010 (FAO, 2011; OLDEPESCA, 2012) y estimaciones en el periodo 2011-12 (Garate, 2011).

En la actualidad, en Iberoamérica se producen más de 80 especies distintas, de las que solo seis de ellas superan las 100.000 t, pero suponen como se ha visto, casi tres cuartas partes de la producción total, mientras que otras diez especies tienen una producción entre 10.000 y 1.000.000 toneladas, destacando la carpa común (*Cyprinus carpio*), el tambaquí o cachama (*Colossoma macropomum*), la vieira abanico (*Argopecten purpuratus*), la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), el alga Gracilaria, y el pacú (*Piaractus mesopotamicus*) y el mejillón de roca o mejillón marrón (*Perna perna*) (FAO, 2011).

En cuanto al valor económico de las especies acuícolas, el camarón, salmón atlántico y trucha suponen más de dos tercios del mismo, debido a sus elevados precios de mercado (Tabla III).

Tabla III.- Valor de las principales especies acuícolas producidas en Iberoamérica en 2008 (FAO, 2011).

ESPECIE	Valor (mill. US \$)	% Valor	Precio (US \$/kg)
Camarón patiblanco	1.688	23,5	4,0
Salmón Atlántico	2.386	33,3	6,5
Trucha arco-iris	943	13,1	5,4
Chorito	407	5,7	2,6
Tilapias	406	5,7	2,1
Salmón Plateado	396	5,5	3,8
Vieira abanico	329	4,6	9,7
Tambaquí	97	1,4	2,1
Carpa común	48	0,7	1,0
Pacú	30	0,4	2,4
Resto especies	444	6,1	3,2
TOTAL	7.174	100	-

Existen dos casos claros de éxito productivo y comercial, el camarón en Ecuador y el Salmón en Chile, ambos productos mayoritariamente para exportación, pues además de ser productos caros, el consumo *per cápita* de pescado en Iberoamérica es bajo, 9,9 kg/persona/año, en comparación con 24,1 kg/persona/año en América del Norte, 20,7 kg/persona/año en Asia, 22,0 kg/persona/año en Europa y 24,6 kg/persona/año en Oceanía, aunque algo superior al consumo en África, 9,1 kg/persona/año.

DISCUSIÓN

Las estimaciones de la FAO (2011) prevén un incremento poblacional en Iberoamérica de 124 millones de habitantes para el año 2030 (Tabla IV), lo que unido al aumento esperado en el consumo *per cápita* de pescado, hace prever un incremento total del consumo de pescado del orden de 6 millones de toneladas (Mt).

Tabla IV.- Incremento estimado de la población y del consumo de pescado en Iberoamérica en el periodo 2010-2030 (FAO, 2011).

Region ALC	Población (millones habitantes)		Consumo Pescado (kg/persona/año)		Consumo Total (millones t)		Incr. Consumo (millones t)
	2010	2030	2010	2030	2010	2030	2010-2030
Caribe	40,7	45,7	10,8	25,8	0,44	1,18	0,74
Am. Central	157,5	193,1	9,2	25,8	1,45	4,98	3,53
Am. Sur	400,5	483,7	8,9	11,1	3,56	5,37	1,80
TOTAL	598,7	722,5			5,45	11,53	6,08

Como se ha comentado anteriormente, las capturas pesqueras se han reducido en los últimos años, por lo que parece razonable pensar que cualquier incremento en la demanda de pescado deberá ser proporcionado por la acuicultura, lo que supondría multiplicar la actual producción, de unos 2 Mt, por un factor de cuatro para pasar a 8 Mt. Para ello, sería necesario incrementar la producción acuícola Iberoamericana en 300 mil toneladas anuales hasta el año 2030, lo que supone un gran reto científico, técnico y administrativo, no exento de dificultades, que tendrán que ser solucionadas para garantizar el aseguramiento alimentario de pescado.

Ante este reto, surgen varias preguntas ¿Qué especies son las más apropiadas para conseguir este aumento en la producción de pescado? ¿Existen suficientes recursos de alevines, alimento, espacio para soportar este incremento? ¿Existe conocimiento científico y tecnológico para acometer tales producciones? ¿Hay voluntad política en los gobiernos nacionales para apoyar la acuicultura?

Resulta difícil concretar las especies que podrían servir de base para acometer este incremento, pero a nivel global, los autores del presente trabajo apuestan por especies autóctonas, tanto de agua dulce como de agua marina, dada la gran disponibilidad de costa y de aguas

continentales.

Respecto a los recursos, uno de los más limitantes es el alimento balanceado, por la disponibilidad de harinas de pescado, cuya producción se ha reducido en los últimos años, y su precio se ha incrementado considerablemente, llegando incluso a sobrepasar los 2.000 USD/t. Las investigaciones desarrolladas por numerosos grupos de investigación en todo el mundo han permitido reducir las cantidades de inclusión de harina de pescado en los piensos para acuicultura (Tacon y Metian, 2008), pasando de una 36,5% en el año 2000 a un 15,4 % en 2010, lo que hace prever un valor del 5% para el año 2020 (Tabla V).

Tabla V.- Contenido en harina de pescado (%) de los piensos acuícolas para diferentes especies en el intervalo 2000-2010-2020 (Tacon y Metian, 2008).

ESPECIE	2000	2010	2020
Camarones	25	12	5
Peces marinos	44	24	8
Salmones	40	18	8
Trucha arco-iris	36	18	8
Carpas	9	3	1
Peces cont. carnívoros	50	35	15
Tilapias	11	3	1
MEDIA GLOBAL	36,5	15,4	5,0

Para la estimación de las necesidades totales de pienso y de ingredientes (harina pescado, concentrados proteicos y cereales) se han considerado una producción al 50% de especies marinas y de agua dulce, con incrementos totales de 1,5, 3,0 y 6,0 Mt, un índice de conversión medio de 1,5, y unos niveles medios de inclusión en los piensos (Tabla VI). Las necesidades de harina de pescado para alimentar los 6 Mt, ascenderían a 450 mil toneladas, lo que supone un 11% de la producción mundial, y un 25% de la producción de Iberoamérica, por lo que en principio habría recurso disponible (hay que tener en cuenta que más de un 40% de la harina de pescado se destina a alimentación de animales terrestres). Si la proporción de pescado dulceacuícola fuera mayor que el marino, las necesidades en harina de pescado podrían disminuir apreciablemente, pues considerando un incremento de 4,5 Mt y 1,5 Mt respectivamente, harían falta solo 315 mil toneladas.

Tabla VI.- Necesidades de piensos balanceados, harina de pescado, concentrados proteicos y cereales para conseguir un incremento progresivo en la producción acuícola iberoamericana de 6 Mt en el 2030 (Fuente: Elaboración propia).

Peces Agua Dulce (x1000 t)	Pienso (IC=1,5) (miles t)	Harina Pescado (2%) (miles t)	Conc. Prot. (40%) (miles t)	Cereales (40%) (miles t)
750	1.125	22,5	450	450
1.500	2.250	45	900	900
3.000	4.500	90	1.800	1.800
Peces Agua Marina (x1000 t)	Pienso (IC=1,5) (miles t)	Harina Pescado (8%) (miles t)	Conc. Prot. (35%) (miles t)	Cereales (35%) (miles t)
750	1.125	90	394	394
1.500	2.250	180	788	788
3.000	4.500	360	1575	1.575
Totales 6 Mt	9.000	450	3.375	3.375

Por otra parte, considerando un peso medio final del pescado de un 1 kg, para producir 6 Mt se necesitarían 8.000 millones de alevines, considerando una supervivencia final del 75 %. Si el peso medio final fuera de 500 g, y la supervivencia del 80%, las necesidades serían de 15.000 millones de alevines. En ambos casos se requiere un gran esfuerzo científico y técnico para implementar granjas de reproducción que sean capaces de suministrar esta gran cantidad de alevines a lo largo de todo el año para optimizar los planes de producción.

En cuando al espacio, km de costa para las especies marinas y hectáreas de lámina de agua para las continentales, en la Tabla VII se presentan las necesidades en diferentes escenarios. Se ha considerado una producción semi-extensiva (2.500 y 5.000 kg por hectárea) en tierra, válida para estanques de tierra o masas de agua naturales. En el caso de las granjas marinas, aunque se plantea una elevada separación entre las instalaciones para garantizar la bioseguridad (1.000 toneladas cada 5 km de costa), la ocupación real sería del orden de 2.000 ton/km, considerándose una alternativa más intensiva (2.000 toneladas cada 5 km coste que equivale a 4.000 t reales por km).

Tabla VII.- Necesidades de espacio para conseguir un incremento progresivo en la producción acuícola Iberoamericana de 6 Mt en el 2030 (Fuente: Elaboración propia).

Incremento producción (x1000 t)	Agua dulce		Agua marina	
	kg/ha	miles has	t/km	km costa
750	2.500	300	2.000	375
750	5.000	150	4.000	188
1.500	2.500	600	2.000	750
1.500	5.000	300	4.000	375
3.000	2.500	1.200	2.000	1.500
3.000	5.000	600	4.000	750

La disponibilidad total de espacio en las diferentes regiones de Iberoamérica, tanto de superficie de agua como de costa, se presenta en la Tabla VIII.

Tabla VIII.- Disponibilidad de espacio en las diferentes regiones de Iberoamérica (Fuente: Elaboración propia a partir de datos de FAO, 2011)

Region ALC	Superficie agua (Millones Has)	Costa (Miles km)
Caribe	1,2	14,6
América Central	3,4	15,9
América Sur	30,5	32,4
TOTAL	35,2	62,9

Por tanto, bajo este escenario, se considera factible el incremento de producción acuícola en agua dulce, pues en el escenario más desfavorable, tan solo se ocuparían 1,2 millones de hectáreas, que representan un 3,4% de la lámina de agua disponible. En el caso de la producción marina, se ocuparían un máximo de 1.500 km de costa, que suponen un 2.4% de la costa.

Esta aproximación requiere un estudio más detallado, pues parte de la producción de especies continentales puede realizarse en estanques de tierra, que no necesitaría lamina de agua, y por tanto las posibilidades serían mayores. En el caso de la costa, y dada la dedicación turística de muchas zonas, habría que establecer las zonas aptas.

CONCLUSIONES

Iberoamérica presenta unas características naturales y socio-económicas que suponen unas magníficas oportunidades para el desarrollo futuro de la acuicultura (adaptado de OLDEPESCA, 2012):

1. Gran variedad de ambientes y climas.
2. Abundantes recursos hídricos, tanto marinos como continentales.
3. Gran disponibilidad de harinas de pescado (45% de la producción mundial).
4. Gran cantidad de especies acuícolas.
5. Pescadores artesanales y campesinos para desarrollar una acuicultura rural.
6. Experiencias de éxito a gran escala.

No obstante, para que la acuicultura pueda incrementarse en el futuro, existen una serie de retos, que se pueden resumir en (adaptado de OLDEPESCA, 2012):

1. Mantener e incrementar de forma sostenibles la producción industrial de pescado para exportación.
2. Incrementar la producción de especies autóctonas para consumo interno y exportación.
3. Aumentar la producción de especies marinas.
4. Fomentar la producción a pequeña escala (acuicultura artesana), pero apoyando estructuras horizontales para compra de insumos y comercialización.
5. Mejorar la formación y la tecnología, basadas en una investigación aplicada que genere innovación.
6. Mejorar la inapropiada gobernanza actual estableciendo un ordenamiento territorial adecuado (licencias, derechos de propiedad, áreas aptas para producción, especies exóticas, movimiento de peces, normativas de sanitarias y de residuos y medioambientales).

Uno de los primeros pasos en el ámbito científico, sería seleccionar las mejores especies candidatas, en función de su crecimiento, posibilidades de reproducción, aceptación por los consumidores, etc., y tras evaluar el estado del conocimiento, plantear programas de investigación y desarrollo tecnológico que permitan poner a dichas especies en producción rentable y sostenible. Dichos programas, deberían estar principalmente relacionados con el control de la reproducción y la mejora genética, el desarrollo de piensos balanceados con rendimientos económicos rentables, la adecuación de los sistemas de producción, la transformación de los productos acuícolas, etc.

Desde el punto de vista político-administrativo, se debería considerar la acuicultura como sector estratégico, y establecer las medidas de apoyo que se consideren en cada momento para potenciar su desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

- FAO 2011. *Revisión regional sobre la situación y tendencias en el desarrollo de la acuicultura en América Latina y el Caribe 2010*. FAO Circular de Pesca y Acuicultura 1061/3. Roma, Italia. 212 pp.
- Garate O. 2011. *Tendencias en la Productividad del Cultivo de Salmonídeos en Chile*. Informe AQUABENCH.
- OLDEPESCA, 2012. Diagnóstico de la acuicultura marina en la región de América Latina y el Caribe. Organización Latino Americana de Desarrollo Pesquero. *XII Conferencia de Ministros OLDEPESCA*, La Habana, Cuba, 17-18 Mayo 2012, 48 pp.
- Tacon A., Metian M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146–158.

SESIÓN DE ACUICULTURA EUROPEA Y DESARROLLO EMPRESARIAL

D. Juan Manuel García de Lomas. Gerente de CTAQUA, España.

D. Javier Ojeda. Gerente de APROMAR, España.

D. Antonio Concepción. Presidente de ASEMA, España.

D. José Manuel Gaiteiro. Subdirector General de Pesca, Junta de Andalucía, España.

Dña. María Luisa Cordero. Directora del Centro IFAPA Agua del Pino, España.

Senda empresarial de la acuicultura marina en el sur de Europa

Ojeda J.

Gerente de la Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos de España (APROMAR). Ctra. del Marquesado km 3,4, 11130 Chiclana, Cádiz, España.

info@apromar.es

RESUMEN

El tejido industrial de la acuicultura de dorada y lubina en el sur de Europa se ha caracterizado históricamente por una muy fuerte fragmentación, contándose las empresas por cientos, y existiendo granjas en todos los países con costa. Sin embargo, hoy el sector empresarial de dorada y lubina, además de una permanente mejora de su eficiencia, ha desarrollado un fuerte movimiento de concentración empresarial iniciado hacia el año 1990 y que continúa en el presente. Como resultado del mismo se ha venido reduciendo el número de empresas operativas y se ha incrementado su tamaño individual. En Grecia, que es el principal país productor de dorada y lubina, sus principales empresas cuentan con potente integración vertical y cotizan en la bolsa de Atenas. En España, por su parte, varias de las mayores empresas forman parte de grupos multinacionales. En la actualidad 6 empresas producen el 70% del total de la producción española de dorada y lubina. La mejora de la cadena de valor de los productos de la acuicultura es uno de los principales retos para su sostenibilidad.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura marina en el sur de Europa abarca 46 especies diferentes de las que en total se producen según FAO 955.000 t anuales (2010). De ellas, 667.000 t lo son de mejillón. Sin embargo, este artículo se centra en el cultivo de peces marinos, que es el subsector más dinámico y con mayor proyección social y económica. Las dos especies más relevantes son la dorada (*Sparus aurata*) y la lubina (*Dicentrarchus labrax*), pescados muy similares entre si en cuanto a su posicionamiento en el mercado y en cuanto a sus requerimientos productivos.

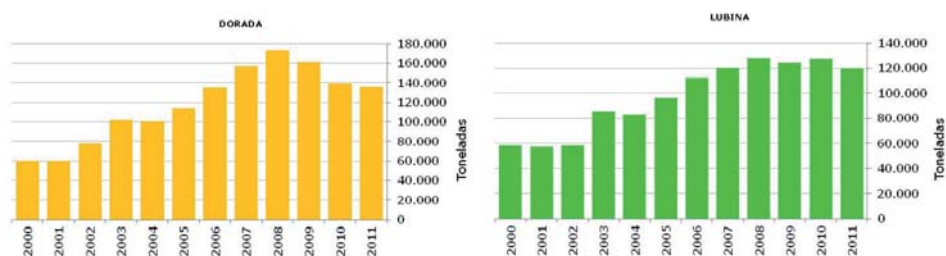


Figura 1.- Evolución de las producciones europeas (incluyendo Turquía) comercializadas de dorada y lubina entre 2000 y 2011.

La mayor parte de los países ribereños del Mediterráneo producen dorada y lubina mediante acuicultura, coexistiendo generalmente ambas especies en las mismas granjas. Existen otras especies de peces marinos cuya explotación comercial en granjas es hoy una realidad, como es el caso de la corvina (*Argyrosomus regius*), de la que se produjeron 3.700 t en 2011. Otras nuevas especies con gran potencial son el lenguado (*Solea senegalensis*) y el atún rojo (*Thunnus thynnus*).

El sector acuícola de dorada y lubina tiene una historia de más de 40 años. Su evolución en este tiempo ha sido apasionante y, aunque cuenta con particularidades diferenciales, su desarrollo ha seguido una senda similar a la de otros animales de consumo, como el pollo, o que otras especies de acuicultura, como el salmón atlántico.

Se diferencian tres etapas en la historia de la acuicultura de la dorada y la lubina. Una primera entre 1980-1990 en la que el objetivo era alcanzar el control del ciclo de producción de estas especies y en la que los profesionales clave eran los empresarios pioneros y los biólogos.

Una segunda etapa (1990-2005) en la que las metas eran la optimización de los procesos productivos, la reducción de costes y el esfuerzo comercial, y en la que las personas clave eran los gestores empresariales.

Y una tercera etapa (2005-presente) en la que los esfuerzos principales se centran en la mejora de la reputación sectorial, en la comunicación, en el desarrollo de nuevos productos y en la apertura de nuevos mercados. En ella subyace una preocupación por la responsabilidad social y por la sostenibilidad, y los profesionales clave son gestores con visión holística de la actividad.

El tejido industrial de la acuicultura de dorada y lubina en el sur de Europa se ha caracterizado históricamente por una muy fuerte fragmentación, contándose las empresas por cientos, y existiendo granjas en todos los países con costa. La evolución de este tejido empresarial ha transitado a través de las tres etapas mencionadas, racionalizándose y adaptándose, en ocasiones de forma traumática y a pesar de la inercia en contra de las administraciones públicas, a la realidad de los mercados y de la globalización de la comercialización.

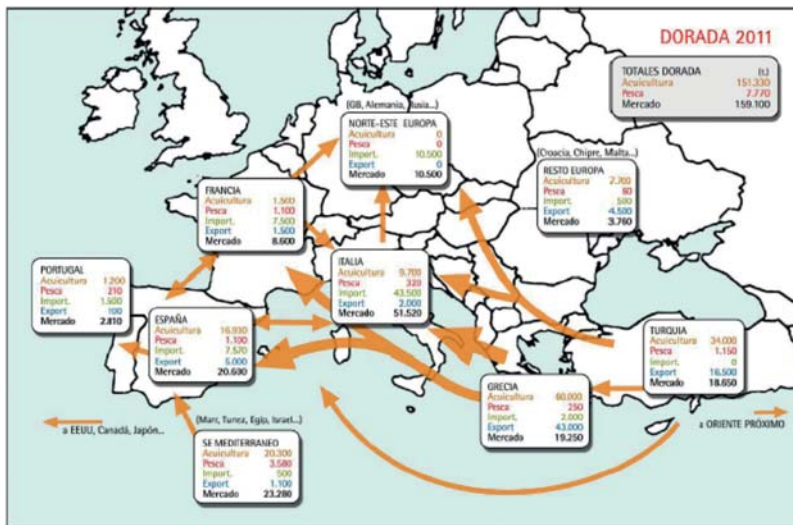


Figura 2.- Diagrama de producciones y flujos comerciales de dorada (*Sparus aurata*).

La producción de dorada de acuicultura en el sur de Europa ascendió a 136.000 t en 2011, con un valor en primera venta de aproximadamente 680 millones de euros, mientras que su pesca supuso tan sólo 8.000 t. El ritmo medio de crecimiento de la producción de dorada de acuicultura ha sido del 6,2 % anual en los últimos 10 años, si bien, mostrando retrocesos en 2001, 2004 y 2009.

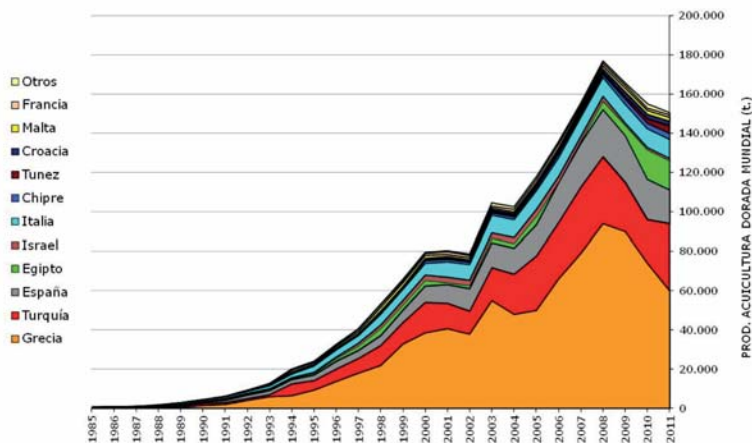


Figura 3.- Evolución de la producción de dorada (*Sparus aurata*) en toda el área mediterránea.

La producción de lubina de acuicultura en el sur de Europa ascendió a 120.000 t en 2011, con un valor en primera venta de aproximadamente 595 millones de euros, mientras que su pesca supuso tan sólo 10.800 t. El ritmo medio de crecimiento de la producción de lubina de acuicultura ha sido del 7,4 % anual en los últimos 10 años, si bien, también mostrando contracciones en 2001, 2004 y 2008.

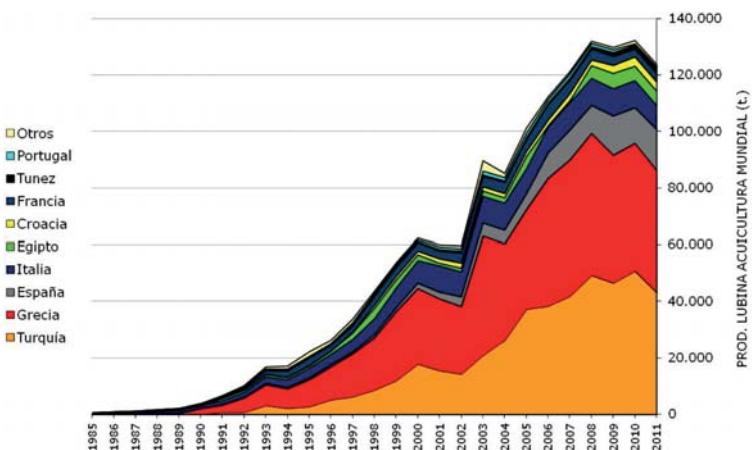


Figura 4.- Evolución de la producción de lubina (*Dicentrarchus labrax*) en toda el área mediterránea.

La viabilidad de una empresa de acuicultura depende de la correcta gestión de una serie de factores como son su planificación presupuestaria, una adecuada financiación, personal motivado y bien formado, y una producción eficiente. Sin embargo, ni con todo ello bien controlado está asegurada su sostenibilidad. El sector empresarial de dorada y lubina, además de una permanente mejora de su eficiencia, ha desarrollado un fuerte movimiento de concentración empresarial iniciado hacia el año 1990 y que continúa en el presente. Como resultado del mismo se ha venido reduciendo el número de empresas operativas y se ha incrementado su tamaño individual. En Grecia, que es el principal país productor de dorada y lubina, sus principales empresas cuentan con potente integración vertical y cotizan en la bolsa de Atenas. En España, por su parte, varias de las mayores empresas forman parte de grupos multinacionales. En la actualidad 6 empresas producen el 70% del total de la producción española de dorada y lubina.

La concentración empresarial es un fenómeno global en el que las empresas buscan economía de escala en todas sus fases de producción en un intento por mejorar su posicionamiento e incrementar su competitividad. Sin embargo, la concentración empresarial no es por sí misma una vía hacia la rentabilidad económica, sólo es efectiva cuando conduce hacia una mejora de costes, hacia una mejor planificación de la producción en su adaptación a la demanda y hacia una mayor capacidad de negociación ante los clientes. En numerosas ocasiones se ha comprobado el fracaso de potentes iniciativas de concentración empresarial en acuicultura por no satisfacer estas premisas. En este sentido es relevante mencionar que existen otras vías para mejorar la rentabilidad de las empresas de acuicultura sin necesidad de consolidación financiera, ni crecer desmedidamente, como es mediante el adecuado uso de las Organizaciones de Productores y mediante acuerdos contractuales entre empresas. Estas vías pueden facilitar a las empresas pequeñas o medianas el mantener su independencia, pero a la vez unificar sus ventas de pescado y las compras de insumos, promover conjuntamente sus productos, establecer marcas de calidad, invertir en productos de valor añadido, recabar mejor información del mercado y sobre todo mejorar la planificación de su producción.

Desde el inicio de su existencia, el sector productor de dorada y lubina ha sufrido reiteradas crisis de mercado, reflejadas en caídas de precios por debajo de los costes de producción, con una periodicidad de aproximadamente 7 años. La causa de las mismas han sido siempre desfases temporales entre la oferta y la demanda propiciadas, o por lo menos no amortiguados, por disfunciones en el funcionamiento de la cadena de valor. La cadena de valor de la dorada y de la lubina, al igual que la de la mayor parte de los productos agrícolas en la Unión Europea, sufre de tensiones en las relaciones comerciales entre las partes, hay ausencia de transparencia sobre cómo se forman los precios e inestabilidad en los mismos, lo que conduce a un mercado imperfecto y a una merma grave de la competitividad de los eslabones más débiles de la cadena.

Los estudios de la cadena de valor tienen como objetivo general el analizar la propia cadena de valor y la formación de precios, con el fin de contribuir a la transparencia del mercado y a detectar sus ineficiencias. En 2010, el ministerio español de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (MAGRAMA) analizó la cadena de valor de la dorada de ración (400 a 600 g) en España durante el ejercicio 2009. La principal conclusión del mismo fue que durante ese año, las empresas de acuicultura soportaron, de media, pérdidas de entre el 14,15 % y el 17,76 % de su facturación, a la vez que los eslabones de la distribución disfrutaban un beneficio superior al 19 %. Esta situación es replicable al resto de los países productores del sur de Europa.

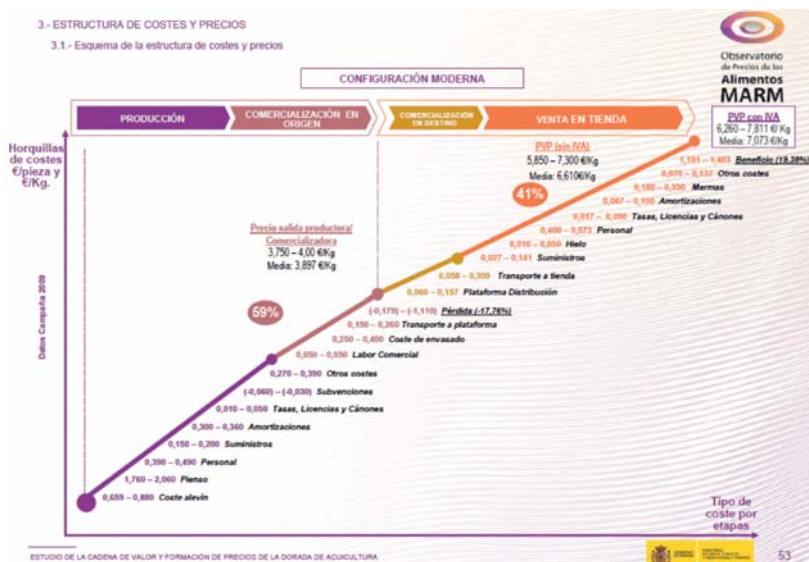


Figura 5.- Estructura de costes y precios de la cadena de valor de la dorada (400-600 g) en España, elaborada por el Observatorio de Precios de los Alimentos del MARM.

Las causas de esta situación han sido descritas por la Comisión Europea en su Comunicación COM(2009)-591 en el que presenta un análisis revelador de las fragilidades y disfunciones en el funcionamiento de la cadena de valor de los productos agroalimentarios en la Unión Europea. La volatilidad de los precios, la especulación, la venta por debajo del coste, la falta de transparencia, la generalización de prácticas desleales y anticompetitivas o las disparidades en el poder de negociación de las partes son problemas que afectan al futuro de todo el sector alimentario y amenazan la supervivencia del denominado “modelo agrícola europeo”. Son a todas luces necesarias medidas para mejorar la transparencia, ya que un requisito para el adecuado funcionamiento de la economía de mercado es la libre

disponibilidad de información, y prevenir las prácticas comerciales injustas que afectan negativamente tanto a los productores como a los consumidores. La acuicultura no es una excepción a ello.

BIBLIOGRAFÍA

- APROMAR 2012. *La Acuicultura Marina en España*. Informe Anual. Chiclana (Cádiz). 84 pp.
- Comisión Europea 2009. *Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las Regiones: Mejorar el funcionamiento de la cadena alimentaria en Europa*. COM(2009) 591. Bruselas. 14 pp.
- FAOSTAT 2012. FAO. Roma.
- MARM 2011. *Estudio de la cadena de valor y formación de precios de la dorada de acuicultura*. Observatorio de Precios de los Alimentos. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Madrid. 68 pp.
- Narro, P (ponente). 2010. *Dictamen del Consejo Económico y Social Europeo sobre la "Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las Regiones – Mejorar el funcionamiento de la cadena alimentaria en Europa"*. NAT/460: Mejorar el funcionamiento de la cadena alimentaria en Europa. Bruselas, 7 de septiembre de 2010.

SESIÓN DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y SANIDAD EN ACUICULTURA

Dña. Dolores Furones. Directora del Centro de Acuicultura del IRTA, San Carlos de la Rápita, España.

Dña. Manuela Vaz-Velho. Directora de la Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal.

D. Pedro Julio García-Chacón. Director del Instituto de Investigaciones Hidrobiológicas, CEMA, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Dña. Carmen Sarasquete. Directora de Instituto Ciencias Marinas e Andalucía, CSIC, Cádiz, España.

Proyecto piloto de seguridad alimentaria de producción comercial de tilapia en comunidades rurales de Guatemala

García¹ P.J., Jiménez² R., Villagrán¹ E.R., Oliva³ M., Fernández⁴ M., Castro¹ A.M., García¹ J.F.

¹ Centro de Estudios del Mar y Acuicultura, USAC. Guatemala, Guatemala

² Departamento de Ingeniería Eléctrica, Universidad de Cádiz, España

³ Departamento de Biología Celular, Universidad de Cádiz, España

⁴ Desarrollo Agrario y Pesquero, Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, España

pjulio Garcia@gmail.com

RESUMEN

El proyecto de I+D que se desarrolla en el presente artículo, constituye una iniciativa de cooperación que permitió aliviar el problema del hambre en la comunidad indígena de Chicoj Tzapineb, en Cobán Alta Verapás, Guatemala.

Dicho proyecto fue desarrollado en cuatro fases de un año cada una, lo que permitió montar ingeniería y el desarrollo de pruebas iniciales de cultivo.

Los objetivos planteados dentro del proyecto se enmarcan en lo científico, la cooperación universitaria y los relacionados directamente con el desarrollo comunitario.

Dentro del ámbito científico se buscaba probar y comparar las bondades de la energía solar térmica y fotovoltaica en la producción de pescado en zonas frías de Guatemala, así como ser un proyecto piloto que luego pudiera ser replicado en otras zonas del país.

En el mismo participaron investigadores de la Universidad de Cádiz, España e investigadores del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Al realizar el cultivo de prueba se pudo observar una clara tendencia en el mejoramiento del crecimiento de los peces en invernadero, dicha situación se vió debilitada por las bajas concentraciones de oxígeno disuelto, las cuales fluctuaron en el mejor de los casos en 2 a 3ppm. Dicho comportamiento se debe a que el agua es extraída de pozo artesiano mediante bombeo solar. Por otra parte dentro del proyecto en la última fase se consideró el montaje de dispositivos aireadores, los cuales son asistidos con energía solar, esto permitirá mejorar sustancialmente la concentración de oxígeno disuelto en el agua y por ende el crecimiento de los organismos.

Existe también dentro del proyecto, aprovechamiento de los desechos del pescado y de las hortalizas, lo cual permite lograr mejores cosechas sin la inclusión de fertilizante químico alguno.

Dentro de las actividades de promoción del proyecto se desarrollaron seminarios y exposiciones que permitieron dar a conocer el mismo. También se editaron videos en sistema americano y europeo, los cuales se entregaron a la comunidad y a las universidades participantes.

INTRODUCCIÓN

El proyecto piloto de seguridad alimentaria de producción de tilapia en comunidades rurales de Guatemala, es un proyecto de I+D y constituyó una iniciativa presentada y aprobada para su financiamiento y ejecución, dentro del Programa de Cooperación Universitaria que financia AECID, el cual se desarrolla en Iberoamérica, Mediterráneo y África Subsahariana.

Dicho proyecto fue desarrollado en cuatro fases de un año cada una, lo que posibilitó el desarrollo de dos capítulos de ejecución, el primero para inventariables y el segundo para servicios.

Durante los cuatro años de su desarrollo, existió un fuerte intercambio de investigadores de España hacia Guatemala y de Guatemala hacia España, estos intercambios permitieron dar a conocer a la comunidad científica y público en general los logros alcanzados en el proyecto. Se fortalecieron vínculos de cooperación y se logró el empoderamiento y capacitación de la

comunidad indígena de Chicoj Tzapineb en Cobán Alta Verapáz.

Se realizaron dentro del proceso de ingeniería del proyecto, pruebas preliminares para aprovechar el sistema y comenzar a aliviar la inseguridad alimentaria de la comunidad.

El proyecto permitió también el equipamiento de un pequeño laboratorio de calidad del agua y sanidad acuícola, donde se pueden y podrán en el futuro desarrollar, pruebas para determinar patologías generales en peces.

Dentro de la planta fue posible la instalación de una estación meteorológica que permitirá generar datos *in situ*, los cuales serán utilizados en el mismo proyecto y se podrán compartir con otras instituciones.

Con el ánimo de continuar la capacitación se dotó tanto al CEMA de la Universidad de San Carlos de Guatemala como a la Comunidad, de equipo para teleconferencias y capacitación virtual sobre aspectos relacionados con el proyecto.



Figura 1.- Dotación de equipo para teleconferencias y capacitación virtual sobre aspectos del proyecto

MATERIAL Y MÉTODOS/RESULTADOS

Al abordar una iniciativa como la que se presenta, es oportuno indicar que por tratarse de una intervención enmarcada dentro de I+D, los resultados que se esperaban y se esperan en el futuro, permitirán una auténtica herramienta de desarrollo comunitario dentro de la producción limpia y cuya experiencia y tecnología puede ser replicada en otros contextos.

Para el desarrollo de la intervención, el proyecto consideró los siguientes componentes, los cuales también se pueden evidenciar en el esquema de la figura 2.

1. Sistema de energía solar térmica
2. Sistema de energía solar fotovoltaica
3. Sistema hidráulico
4. Sistema de estanquería de producción de peces agua fría (ambiente)
5. Sistema de estanquería de producción de peces agua calentada (invernadero)
6. Sistema de filtrado y desfogue
7. Sistema de riego por gravedad (producción de cultivos de humedad, Malanga *Xanthosoma* sp.
8. Sistema de riego por gravedad y goteo para cultivo de hortalizas, Zanahoria *Daucus carota*, y rábano *Raphanus sativus*.
9. Sistema de compostaje

El esquema de producción es el siguiente:

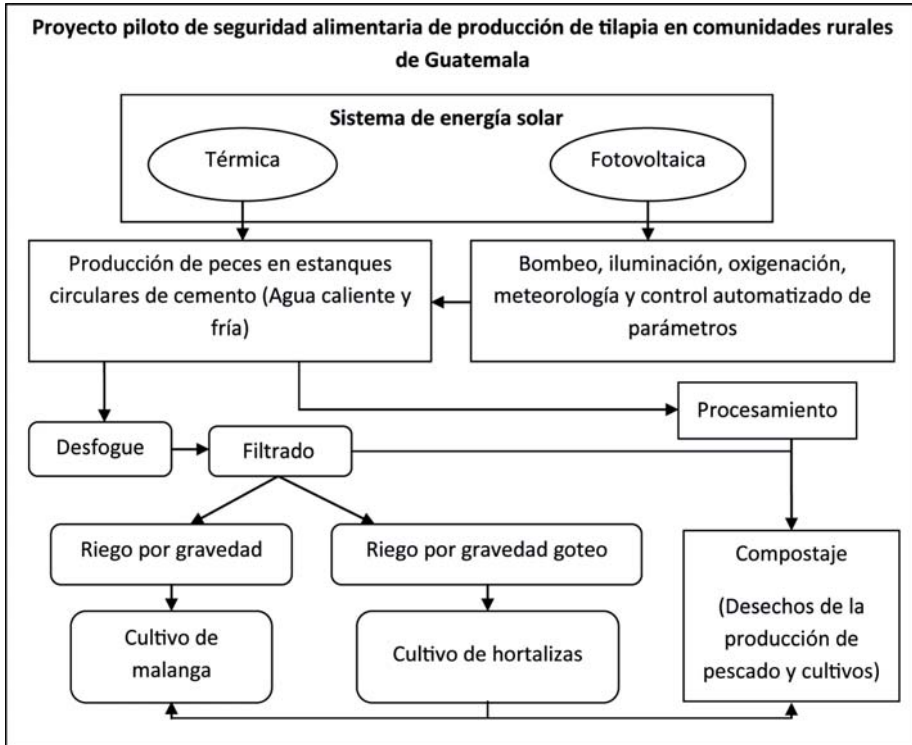


Figura 2.- Esquema del sistema productivo en general

INGENIERÍA DEL PROYECTO

Para lograr la ingeniería total del proyecto fue necesario instalar los siguientes equipos e infraestructura: seis estanques circulares de 19.8 m³ cada uno, 35 captadores solares térmicos, 16 captadores solares fotovoltaicos para bombeo, una bomba solar sumergible vertical, 3 tinacos de polietileno de 8000 litros cada uno, 2 interacumuladores de 1500 litros cada uno, un arreglo fotovoltaico de 2.5 kw pico para iluminación y automatización, un sistema de riego por goteo, infraestructura de compostaje, un laboratorio de procesamiento y comercialización de pescado y hortalizas.



Figura 3.- Captadores solares térmicos y fotovoltaicos, acumulación de agua y estanquería de agua fría y caliente.

ACTIVIDADES DE EMPODERAMIENTO

Antes, durante y a la conclusión del proyecto se mantuvieron actividades de empoderamiento y capacitación, tanto en el manejo y mantenimiento de la planta piscícola como en la cosecha, procesamiento del pescado y hortalizas y el manejo del compostaje.



Figura 4.- Actividades de empoderamiento del proyecto.

PRODUCCIÓN DE TILAPIA

Durante el desarrollo de la ingeniería se realizaron siembras de prueba con alevines de tilapia *Oreochromis niloticus*, en estanques circulares de 19.8m³, con una densidad de 10 alevines por metro, se comparó el crecimiento de los estanques de agua fría (temperatura ambiente 20°C) con el crecimiento de los peces en agua caliente dentro del invernadero (24 a 25°C), lográndose una ligera diferencia con mejores crecimientos en el agua caliente, esta ligera diferencia se dio por la falta de aireadores en el momento del cultivo de prueba ya que el oxígeno disuelto en muy pocas horas durante el día superó los 3 ppm. Esta situación se verá mejorada seguramente cuando ya se encuentre instalado el sistema de aireación el cual

está actualmente en implementación.



Figura 5.- Producción de tilapia en estanques de agua fría y caliente bajo invernadero



Figura 6.- Capacitación y procesamiento de pescado



Figura 7.- Desfogue, filtración, riego por gravedad y riego por goteo

PRODUCCIÓN DE MALANGA Y HORTALIZAS APROVECHANDO EL AGUA DE DESFOQUE DE LA PRODUCCIÓN DE PESCADO



Figura 8.- Cultivo de malanga y hortalizas

COMPOSTAJE

Tanto los desechos de la producción de los peces como el agua de desfogue de los tanques de cultivo y el desecho de las hortalizas, es llevado al cuarto o planta de compostaje para luego volver a los cultivos, de esta forma se aprovecha al máximo la energía utilizada y producida en el sistema.



Figura 9.- Cosecha y desechos de hortalizas (hojas y tallos) que luego van al compostaje

DISCUSIÓN

Como pudo observarse en la descripción y las imágenes, el proyecto permite valorar el uso de energías alternativas, en este caso energía solar térmica y fotovoltaica para una producción limpia y llevar una alternativa productiva a comunidades en desventaja y con

inseguridad alimentaria, el clima de la región de enclave del proyecto es frío, lo que hace difícil el crecimiento de peces de interés comercial. Al calentar el agua mediante energía solar se posibilita la producción de tilapia y por tanto, la inclusión de proteína de alta calidad en la dieta de la comunidad.

Aunque aún no se ha concluido totalmente la ingeniería del proyecto, en ensayos preliminares o de prueba se encontró una ligera tendencia de mejor crecimiento en agua calentada con energía solar, este crecimiento se vio limitado por la baja concentración de oxígeno disuelto en el agua (3 ppm), dicha situación se verá favorecida mediante la instalación de aireadores los cuales serán asistidos 100% con energía solar.

Por otra parte es evidente la aceptación de la comunidad hacia el proyecto ya que constituye una actividad que unifica esfuerzos comunitarios, capacita y desarrolla actitudes de trabajo calificado.

CONCLUSIONES

- ❖ El uso de energía solar, constituye una alternativa de desarrollo comunitario.
- ❖ Mediante el uso de energía solar es posible una producción limpia de grandes ventajas comparativas.
- ❖ El agua calentada con energía solar manifiesta tendencia en el mejoramiento del crecimiento de tilapia para zonas frías.
- ❖ Aunque no se ha medido el flujo de energía en el sistema, se puede decir que el aprovechamiento de todos los subproductos hace sostenible la producción de la planta piscícola.
- ❖ El proyecto constituye una valiosa herramienta para la producción de alimento de alta calidad, la capacitación, la visita guiada y la investigación.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue posible gracias al financiamiento de la AECID (Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo), entidad que ha posibilitado que hoy exista una

alternativa alimentaria para la comunidad de Chicoj Tzapineb, en Cobán Alta Verapáz, Guatemala.

A la Universidad de Cádiz, cuyos investigadores participaron activamente en el planteamiento y desarrollo del proyecto en su totalidad.

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura, por el apoyo en el desarrollo total del proyecto y por el compromiso de seguimiento del mismo.

Al sacerdote Sergio Godoy, por su preocupación y lanzamiento de la idea original del proyecto.

Agradecimiento especial a la empresa IGFOTON ingenieros, empresa SPIN.OFF de la Universidad de Cádiz, al participar en el diseño y simulaciones virtuales del proyecto.

SESIÓN DE CULTIVO DE ALGAS

- D. Pedro Cañavate.** Centro IFAPA El Toruño, El Puerto de Santa María, España.
- D. Carlos Unamunzaga.** Fitoplacton Marino S.L., El Puerto de Santa María, España.
- D. Luis Lubián.** ICMAN, CSIC, Puerto Real, España.
- D. Javier Alarcón.** Universidad de Almería, España.

Aspectos funcionales de las microalgas en la acuicultura

Cañavate J.P.

IFAPA Centro El Toruño, Apartado 16. 11500 Puerto de Santa María. Cádiz. España.
josep.canavate@juntadeandalucia.es

RESUMEN

La alimentación funcional dentro del sector de la acuicultura hay que abordarla siguiendo unos esquemas similares a los que dieron origen a este concepto en el campo de la alimentación humana. Así, bajo el término de alimentos funcionales para la acuicultura hay que considerar todo aquel alimento que, formando parte de la dieta rutinaria de las especies, se demuestre científicamente que representan una mejora de su estado fisiológico, mas allá del estricto aspecto nutricional, que facilita un mejor estado de salud y una mayor capacidad de defensa frente a enfermedades. Las principales actividades fisiológicas beneficiadas con la ingesta de alimentos funcionales son las relacionadas con el metabolismo antioxidante, la regulación de procesos inflamatorios, la modulación del sistema inmune, la mejor capacidad de defensa frente a infecciones por microorganismos y una mayor protección para disminuir el riesgo de sufrir enfermedades derivadas de hábitos de vida poco saludables. En este sentido, las microalgas presentan una amplísima variedad de compuestos, cuya actividad biológica acredita alguna de las funciones anteriores. Este trabajo se centra en cuatro grupos principales de compuestos funcionales existentes en microalgas como son el de los lípidos (ácidos grasos, fosfolípidos y esfingolípidos), isoprenoides (esteroles, pigmentos carotenoides), fenoles y derivados halogenados. Para cada uno de estos grupos se describen las principales características relacionadas con su funcionalidad y su presencia en microalgas, además de discutir sobre las posibilidades de investigación y futuro de aplicación de dichos compuestos. Tanto en ácidos grasos como en derivados isoprenoides existe una relativamente amplia

información en cuanto a su contenido y propiedades funcionales en microalgas, mientras que para los otros dos grupos contemplados en este trabajo (fenoles y compuestos halogenados) la información relativa para microalgas es escasa, y merecedora por lo tanto de estudios futuros. Otros compuestos de microalgas con propiedades funcionales (aminoácidos tipo micospolina, ficobiliproteínas, polisacáridos y vitaminas) no son tratados en este trabajo.

PALABRAS CLAVE

Alimentos funcionales, lípidos, isoprenoides, fenoles, acuicultura.

CONCEPTO GENERAL DE ALIMENTOS FUNCIONALES

El término alimento funcional fue inicialmente utilizado a comienzos de la década de los ochenta en Japón, con la finalidad de englobar aquellos alimentos relacionados con una mayor protección de la salud y la prevención de enfermedades para una población humana con esperanza de vida en aumento (Arai, 1996). Se trataba de reducir los costes de atención sanitaria derivados de la existencia de una población cada vez más longeva. En este sentido, la “*Food and drug Administration*” (FDA) de Estados Unidos acepta la correlación avalada científicamente entre la presencia de determinados nutrientes en la dieta con la prevención de ciertas enfermedades humanas (Diplock *et al.*, 1999). En líneas generales, un alimento es considerado como funcional cuando se comprueba que afecta beneficiosamente a una o más funciones que están claramente identificadas en el consumidor, partiendo siempre de la base de que la dieta es nutricionalmente completa (Shahidi, 2009). Se trata por lo tanto de alimentos que inducen un mejor estado de salud, aumentan el bienestar fisiológico y reducen el riesgo de padecer enfermedades, más allá de su mero valor nutricional. El alimento funcional debe formar parte de la dieta habitual del consumidor y debe demostrar sus efectos en cantidades normalmente consumidas con la dieta, formando parte del patrón habitual de alimentación, no pudiéndose considerar como tales a los suplementos alimenticios administrados mediante cápsulas (Diplock *et al.*, 1999). El concepto de alimento funcional representa una categoría con identidad propia que está, además, bien diferenciada de otras categorías como las de nutracéuticos o farmacéuticos. Los nutracéuticos se obtienen a partir de alimentos, pero su consumo no está asociado a la ingesta de comida, ya que su formato suele ser el de

comprimido, jarabes o polvos, que se ingieren de manera suplementaria a la dieta.

Entre las numerosas definiciones que se han empleado para describir los alimentos funcionales cabe destacar, por su sencillez, aquella que se aplica a cualquier tipo de alimento, similar en apariencia a los convencionales e ingeridos con su misma rutina, que contribuyen de manera científicamente demostrada a mejorar el estado de salud del consumidor, colocándolo por encima del estado de salud que se derivaría a partir de una alimentación común. El aspecto más importante de esta definición hay que buscarlo allá donde se estipule en que consiste una alimentación que de lugar a una nutrición que pueda ser asumida como común, o básica. Esta, puede venir a su vez determinada por factores culturales, ideológicos o económicos. Esta línea base de la nutrición es, evidentemente, muy ambigua y los aspectos de funcionalidad de la dieta que la hacen aumentar son diferentes según se trate de productos para el consumo directo humano o para la alimentación de especies ganaderas que sirven de alimento al hombre. Desde un punto de vista práctico, un alimento funcional puede ser cualquier alimento natural, un alimento al que se le añada o elimine un compuesto, o un alimento en el que se modifique la naturaleza o biodisponibilidad de uno o más de sus compuestos (Roberfroid, 2002). La utilización de microalgas dentro del concepto de alimento funcional es una más de las diversas aplicaciones de las que estos microorganismos pueden ser objeto de explotación comercial. En esta revisión se aborda pues de manera específica el aspecto de alimento funcional que presentan las microalgas, con especial énfasis en su papel en la acuicultura, no tratándose otras aplicaciones como las terapéuticas, cosméticas o las relacionadas con la industria bioquímica.

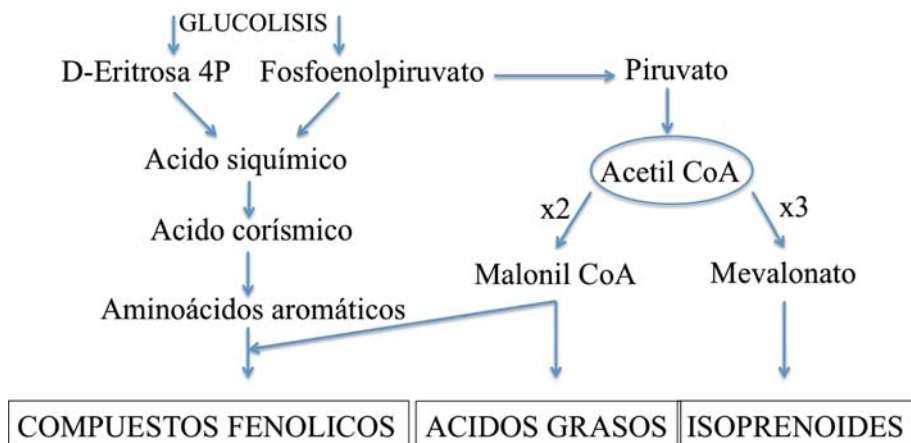


Figura 1.- Rutas metabólicas que dan lugar a tres de los principales grupos de compuestos funcionales en microalgas.

PRESENCIA DE COMPUESTOS FUNCIONALES EN MICROALGAS

Las microalgas, al igual que otros organismos fototróficos, exhiben una pléyade de compuestos, muchos de ellos derivados de su metabolismo secundario, cuya actividad bioquímica esta asociada al concepto de funcionalidad tal y como se ha descrito. Las principales actividades fisiológicas que se ven beneficiadas en cualquier tipo de consumidor a partir de la ingesta de alimentos funcionales son las relacionadas con el metabolismo antioxidante, la regulación de procesos inflamatorios, la modulación del sistema inmune, la mejor capacidad de defensa frente a infecciones por microorganismos y una mayor protección para disminuir el riesgo sufrir enfermedades derivadas de hábitos de vida poco saludables. Los compuestos con capacidad funcional descritos en microalgas son muy diversos (Pulz y Gross, 2004; Spolaore *et al.*, 2006; Plaza *et al.*, 2007). Ante la enorme variedad de sus estructuras moleculares, en este trabajo se han considerado cuatro grandes grupos de compuestos que han de representar la mayor parte de los alimentos funcionales en acuicultura. Hay tres grandes grupos de compuestos, derivados a su vez de tres rutas metabólicas principales, en los que se pueden englobar los compuestos funcionales mas estudiados: (i) ácidos grasos y las diferentes clases lipídicas en las que se encuentran esterificados, (ii) el amplio grupo de los derivados isoprenoides, y (iii) los compuestos fenólicos de muy diversa naturaleza bioquímica (Figura 1). El cuarto grupo aquí considerado no se puede encuadrar dentro de compuestos derivados de una ruta metabólica general, ya que obedece a un proceso bioquímico marino común como es el de la halogenación, el cual afecta de una manera ciertamente indiscriminada a una amplia gama de compuestos. Ante el limitado espacio disponible para este trabajo, quedan fuera del mismo compuestos presentes en microalgas con bastante relevancia desde el punto de vista funcional, como puedan ser diversas vitaminas, aminoácidos tipo micosporinas, poliquétidos, polisacáridos sulfatados y ficobiliproteínas.

ÁCIDOS GRASOS, GLICEROLÍPIDOS Y ESFINGOLÍPIDOS

La especificidad de las microalgas en la producción de ácidos grasos se inicia a partir del ácido esteárico (18:0), el cual es producido mediante la ruta aeróbica convencional de animales y plantas. Las microalgas poseen una amplia variedad de enzimas encargadas de

introducir selectivamente dobles enlaces en posiciones específicas (desaturadas), además de llevar a cabo procesos de condensación con radicales acetilo que aumentan la longitud de las cadenas en dos carbonos (elongadas). A partir del análisis de la distribución taxonómica de los genes codificantes para estas enzimas, se ha sugerido que el proceso de elongación-desaturación ha evolucionado de manera paralela (Chi *et al.*, 2008). Los ácidos grasos mejor descritos por su carácter funcional son tres poliinsaturados con cadena de 20 carbonos (ácido araquidónico y ácido eicosapentaenoico) y 22 carbonos (ácido docosahexaenoico). Estos ácidos grasos desempeñan un papel básico en el metabolismo celular, incluyendo funciones elementales como fluidez de membrana, adaptación térmica y transporte de electrones y oxígeno. Son, además, precursores de potentes moléculas de señalización (eicosanoides) que intervienen en funciones esenciales de regulación del metabolismo. Otros ácidos grasos de relevancia son los ácidos linolénico, hexadecatrienoico, stearidónico y docosapentaenoico. La producción de estos compuestos está muy limitada a las microalgas, transmitiéndose a través de la cadena trófica hacia los consumidores, los cuales presentan, por lo tanto, un muy elevado grado de esencialidad para estos nutrientes. La literatura existente en relación a estos compuestos y su papel en la nutrición es muy amplia y profundizar en este tema va más allá de los objetivos de la presente revisión. Destacar, no obstante, la elevada especificidad para la producción de ácidos grasos en función del grupo taxonómico de microalgas, característica que se emplea tanto para la identificación de estas, como marcador trófico en diversas aplicaciones. Para una información más detallada sobre la diversidad y composición en ácidos grasos de las microalgas se pueden consultar algunos trabajos recientes (Guedes *et al.*, 2011; Lang *et al.*, 2011).

Los ácidos grasos se encuentran normalmente esterificados en diversos tipos de glicero-lípidos, pudiendo estos ser de naturaleza apolar (triglicéridos) o polar (fosfolípidos, galactolípidos, lípidos de betaina). La variedad de compuestos dentro de cada uno de estos grupos moleculares es notable, oscilando además su contenido en función de factores externos de cultivo (Guschina y Harwood, 2009). Diferentes tipos de lípidos polares están catalogados como compuestos funcionales, ejerciendo una mayor actividad funcional cuando una misma estructura molecular (fosfatidilcolina, por ejemplo) presenta ácidos grasos con mayor nivel de insaturación. Ha de quedar claro por lo tanto, que el importante papel que en la mayoría de los trabajos se atribuye a los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, depende también de la naturaleza del glicerolípido en el que vaya esterificado.

Una clase de lípidos polares de elevada relevancia por su funcionalidad metabólica es la de los esfingolípidos, compuestos que desarrollan funciones muy importantes a nivel de membrana, en el tráfico vesicular y en procesos de señalización metabólica (Dickson, 2008). Su actuación en las membranas se lleva a cabo en conjunción con esteroides, sin embargo su distribución es más ubicua que la de estos, estando presentes tanto en cianobacterias, como

en protistas eucariotas fotosintéticos, a diferencia de los esteroides, cuya presencia en cianobacterias apenas ha sido descrita (Volkman, 2003). A pesar de su ubicuidad, apenas existen referencias que describan esfingolípidos de manera específica en microalgas, constituyendo la ceramida identificada en el dinoflagelado *Coolia monotis* (Tanaka *et al.*, 1998) un caso aislado. La presencia de esfingolípidos está extendida entre los organismos marinos, en los cuales desempeñan numerosas funciones (Muralidhar *et al.*, 2003). Trabajos recientes han encontrado contenidos de esfingolípidos entre 5% y 10% del total de lípidos en Haptofitas (Cañavate *et al.*, en trámite de publicación).

ISOPRENOIDES

Los isoprenoides constituyen un grupo muy diverso de metabolitos, primarios y secundarios, que desempeñan numerosas funciones fisiológicas. Entre los principales compuestos englobados en los isoprenoides, caben destacar esteroides, fitoles (cadenas laterales de las moléculas de clorofila), quinonas (transporte de electrones) y carotenoides. En macroalgas, los isoprenoides constituyen la mayor parte de los compuestos bioactivos, mientras que en microalgas su diversidad es algo menor (Maschek y Baker, 2007).

Los fito-esteroides presentes en microalgas son derivados del escualeno (C₃₀) y muestran una gran diversidad de estructuras moleculares, que están además relacionadas con la posición taxonómica de las diferentes especies (Volkman, 2003). Existen sobradas evidencias sobre la riqueza de estos compuestos en microalgas, pero su eventual presencia en cianobacterias es muy controvertida (Summons *et al.*, 2006). Dado el absoluto requerimiento de esteroides por parte de crustáceos y bivalvos, el escaso valor nutricional y funcional de cianobacterias para estas especies es evidente. Por el contrario, la ya comentada diversidad de esteroides en microalgas ofrece la posibilidad de combinar dietas multispecíficas que ofrecen a moluscos y crustáceos la posibilidad de disponer de una buena diversidad de estos compuestos, que favorece su mejora fisiológica, una vez que sus requerimientos nutritivos han sido satisfechos. La funcionalidad de los esteroides se debe en parte al carácter anfipático de su molécula, gracias al cual el grupo polar 3 β -OH se orienta hacia la fase acuosa de la membrana, mientras que el esqueleto tetra-cíclico y la cadena de alquilo se localizan en la zona hidrófoba. Los esteroides representan una vía básica en la modulación de la fluidez de membrana, la permeabilidad y la función de diversas proteínas, además de ser precursores de la vitamina D y numerosas hormonas esteroides que regulan el metabolismo de las especies cultivadas.

Los carotenoides son tetraterpenos (C_{40}) que actúan como metabolitos primarios cuando su función es la fotoprotección, la captación accesoria de radiación lumínica y la eliminación selectiva de radicales excitados de oxígeno (oxígeno singlete), producidos como consecuencia de la sobreexcitación lumínica de la clorofila (estado triplete). Los carotenoides secundarios no son necesarios para la fotosíntesis y se ubican globularmente en el citosol, especialmente bajo condiciones de estrés (Lemoine y Schoefs, 2010). Esta circunstancia se aprovecha para la obtención industrial de dos carotenoides (β -caroteno y astaxantina) a partir del cultivo masivo de las microalgas *Dunaliella salina* y *Haematococcus pluvialis*, respectivamente. Las funciones descritas para estos carotenoides secundarios son variadas, destacándose las de reserva de carbono, protección frente a radiación ultravioleta y defensa antioxidante (Lemoine y Schoefs, 2010). Respecto a la función antioxidante en carotenoides, hay que distinguir dos tipos básicos de actuación. El primer tipo está relacionado con la disipación del exceso de energía que presentan radicales reactivos como el oxígeno singlete y no implica la donación de electrones desde el antioxidante. En el caso del oxígeno singlete, el electrón sobreexcitado por la clorofila en estado triplete cede su energía a compuestos como los carotenoides, recuperando el oxígeno su estado no reactivo (triplete). La energía absorbida por los carotenoides es disipada en forma de calor, siendo esta actividad proporcional al número de dobles enlaces conjugados que presenta sus moléculas. Este proceso no implica la destrucción del compuesto antioxidante, por lo que una misma molécula puede cumplir su función de manera reiterada. Por el contrario, los procesos antioxidantes en los que se produce una donación electrónica para neutralizar la especie reactiva de oxígeno, llevan asociada la oxidación y/o destrucción de la molécula que actúa como antioxidante. Estas, han de ser, bien regeneradas por el sistema antioxidante general de la célula, o bien sintetizadas de nuevo para restituir el pool del compuesto. La actuación de los carotenoides en la disipación de energía de estados sobreexcitados del oxígeno singlete requiere también una gran proximidad física con el lugar de generación de este. Por otro lado, trabajos de resonancia magnética nuclear han evidenciado la incapacidad de la molécula de β -caroteno para donar electrones (Lee *et al.*, 2003). De acuerdo a estas características, se considera que el mecanismo principal de acción de los carotenoides consiste en la disipación de energía (Triantaphylides y Havaux; 2009). No obstante, otros carotenoides que presentan enlaces alenos o radicales acetilo (fucoxantina) sí presentan capacidad donadora de electrones.

El mecanismo de actuación conocido para uno de los carotenoides más utilizados en acuicultura, como es el β -caroteno, es pues muy específico del fotosistema II, y no permite por lo tanto explicar satisfactoriamente su actuación como antioxidante entre las especies que consumen alimentos ricos en ellos. Sin embargo, son numerosos los trabajos que relacionan la ingesta de β -caroteno con mejoras en el estado de salud y prevención de riesgo de enfermedades, tanto en especies acuícolas como en humanos. En este sentido, es preciso considerar otros aspectos funcionales de carotenoides como su papel en la estimulación del sistema

inmune, su actuación como precursores de vitamina A y la regulación del metabolismo de eicosanoides.

COMPUESTOS FENÓLICOS

Los aproximadamente 8.000 compuestos conocidos en este grupo se derivan de la fenilalanina, producto a su vez de la ruta del ácido siquímico, y en la biosíntesis de una buena parte de ellos se requiere también la participación del malonil-CoA. Este precursor metabólico es por lo tanto compartido como fuente en la biosíntesis de ácidos grasos y polifenoles. La elevada diversidad de compuestos fenólicos hace que su clasificación no sea sencilla, aunque se pueden resaltar dos grupos fundamentales, el de los ácidos fenólicos y el de los flavonoides. El primero recoge los compuestos con estructura molecular mas simple, y agrupa a su vez dos subgrupos, uno el de los derivados del ácido benzoico (un anillo fenólico y cadena alifática C1), y otro, el de los compuestos relacionados con el ácido cinámico (un anillo fenólico y cadena alifática C3). Bajo el término de flavonoides se engloban una variedad de compuestos fenólicos caracterizados por un esqueleto de carbono C6-C3-C6, en el que hay dos anillos fenólicos. Este grupo se subdivide a su vez en isoflavonas, flavanoles, flavonas y antocianidinas. Otros tipos de polifenoles están representados por la amidas polifenólicas, caracterizadas por la presencia de un átomo de nitrógeno. Entre los compuestos mas conocidos de este grupo están los capsaicinoides, presentes en pimientos picantes, y con una fuerte actividad antioxidante y antiinflamatoria. Por último, considerar la existencia de numerosos compuestos fenólicos que no encajan dentro de los tres grupos antes citados, dada la elevada variabilidad de estructuras moleculares existente. Uno de los compuestos fenólicos mas conocidos que se podrían clasificar dentro del apartado de “otros polifenoles” es el resveratrol.

La actividad antioxidante de los polifenoles se lleva a cabo mediante la donación de electrones a radicales libres, los cuales quedan neutralizados, mientras que los propios polifenoles quedan oxidados por la pérdida del electrón, pero su actividad pro-oxidante es inferior a la de los radicales libres, gracias a su configuración molecular. Aunque los polifenoles actúan en la regeneración de vitaminas esenciales como el tocoferol (Zhou *et al.*, 2005), el anterior es el mecanismo de acción mas común que ha sido descrito desde hace tiempo, fundamentalmente a través de estudios *in vitro*. Sin embargo, recientes trabajos *in vivo* sobre las funciones de los polifenoles, cuestionan el proceso antioxidante convencional antes citado y sugieren que estos compuestos podrían desempeñar un papel mas relacionado con la señalización metabólica, en particular en la actividad quinasa (Williams *et al.*, 2004). La acción

antioxidante de los polifenoles podría estar también relacionada con la estimulación que estos compuestos ejercen sobre enzimas típicas antioxidantes como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa (Du *et al.*, 2007).

En la ruta biosintética de los polifenoles existe un paso determinante, que conecta el metabolismo primario con el secundario. Se trata de la conversión de fenilalanina en cinamato, proceso que es catalizado por la enzima fenilalanina amonio liasa (FAL). Mientras que esta enzima es activa en vegetales superiores, su presencia no ha podido ser demostrada en microalgas (Emiliani *et al.*, 2009). Sin embargo, en microalgas como *Chlamydomonas nivalis* se ha evidenciado la presencia de compuestos aromáticos secundarios, cuya concentración aumenta además en respuesta a factores de estrés (Duval *et al.*, 1999). La realidad presente es que las rutas metabólicas que conducen a la síntesis de fenoles en microalgas son poco conocidas, pero en cualquier caso las escasas referencias disponibles acerca del contenido de estos compuestos en microalgas, podrían sugerir valores inferiores respecto a los existentes en plantas superiores. No obstante, se requieren todavía numerosos trabajos de investigación en este sentido que permitan conocer con el suficiente rigor acerca del contenido real y la diversidad de compuestos fenólicos en microalgas. En una revisión reciente, se muestran valores máximos de polifenoles totales entre 3 y 4,5 mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de biomasa para especies como *Isochrysis* y *Phaeodactylum* (Goiris *et al.*, 2012). Los escasos trabajos relacionados con la presencia de polifenoles en microalgas han estimado la cantidad de estos frente a curvas patrón de ácido gálico y todavía no han profundizado pues en análisis específicos de los compuestos fenólicos. Tan solo el reciente trabajo de Klejduš *et al.*, (2010) ha descrito por primera vez la presencia de ocho isoflavonas diferentes en un grupo de macroalgas y microalgas.

COMPUESTOS HALOGENADOS

La halogenación es un proceso muy común en el medio marino y consiste en la fijación de especies oxidadas (ácidos hipohalosos) de cloro, bromo o yodo disueltos en el agua de mar, en metabolitos primarios o secundarios de las especies marinas. Este fenómeno aumenta la bioactividad de dichas moléculas, cumpliendo diversas funciones, entre las que la de carácter antibacteriana es la más conocida (Vairappan *et al.*, 2001). Recientemente, se ha postulado que la presencia de compuestos fenólicos bromados, puede constituir un elemento de interés en alimentación, gracias a la potente actividad antioxidante que presentan estas moléculas (Li *et al.*, 2012). El nivel de conocimiento actual acerca de las propiedades funcionales de compuestos halogenados es muy reducido, siendo necesario abordar ensayos específicos en

los que se caractericen dichos compuestos, así como su aplicación en alimentación funcional. La presencia de compuestos halogenados ha sido principalmente estudiada en macroalgas, en las que se describe desempeñan un papel relacionado con la protección frente a depredadores y epífitos. Por el contrario, en microalgas este nivel de conocimiento es inferior, a pesar de su mayor biomasa global, diversidad taxonómica y papel en la regulación de los flujos energéticos oceánicos.

La halogenación es un fenómeno bien descrito, sobre todo por sus implicaciones climáticas, pero desde la perspectiva de la alimentación hay que destacar, por ejemplo, la existencia de numerosos ácidos grasos halogenados (Dembitsky y Srebnik, 2002). El enlace químico de halógenos con metabolitos celulares es un proceso subsecuente a la incorporación de cloro, bromo o yodo en la célula. Se piensa que dicha incorporación esta mediada enzimáticamente, aunque en un trabajo reciente no se han podido encontrar evidencias de ello en la Haptophyta *Isochrysis galbana* (Van Bergeijk *et al.*, en evaluación). Entre los diferentes tipos de halogenasas, las haloperoxidasas utilizan los electrones de iones cloruro, bromuro y yoduro para eliminar peróxido de oxígeno y reducir así estrés oxidativo. La consecuente oxidación de los haluros en ácidos hipohalurosos facilita su permeabilidad a través de la membrana celular, y su posterior organificación en diversas moléculas. Existen tres tipos principales de haloperoxidasas. Estas son cloroperoxidasas, bromoperoxidasas y yodoperoxidasas. Las primeras pueden oxidar cloruro, bromuro y yoduro, mientras que las segundas solo lo hacen con bromuro y yoduro. Las yodoperoxidasas solo pueden oxidar yoduro. De acuerdo a esta actividad enzimática, así como a la cantidad presente de estos halógenos en el agua de mar, los compuestos yodados son minoritarios. Sin embargo, el carácter biofilico del yodo confiere a los compuestos yodados un papel de especial relevancia desde el punto de vista de la alimentación funcional.

La mayor parte del yodo fijado por el fitoplancton es emitida a la atmósfera en forma de compuestos volátiles yodocarbonados, circunstancia que es de importancia climática y ecológica. Otra parte del yodo incorporado queda fijada en una variedad de moléculas, no estando muy claras las razones biológicas de ello (Manley, 2002). Uno de los casos más interesantes es el de la formación de compuestos con actividad tiroidea en el fitoplancton, debido a las implicaciones que ello conlleva para sus consumidores (Heyland y Moroz, 2005). La presencia de tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), detectadas en diatomeas, se describió en su momento como una circunstancia esencial durante el desarrollo temprano de equinodermos (Chino *et al.*, 1994). Los diferentes compuestos yodados que puedan aparecer en microalgas, así como la capacidad metabólica que estas puedan tener para modificarlos, es un campo que está por investigar, y del que se pueden esperar avances significativos en lo que a alimentación funcional en acuicultura se refiere.

BIBLIOGRAFÍA

- Arai S. 1996. Studies of functional foods in Japan; State of the art. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 60: 9–15.
- Chi X., Zhang X., Guan X., Ding L., Li Y., Wang M., Lin H., Qin S. 2008. Fatty acid biosynthesis in eukaryotic photosynthetic microalgae: identification of a microsomal delta 12 desaturase in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Microbiology* 46: 189–201.
- Chino Y., Saito M., Yamasu K., Suyemitsu T., Ishihara K. 1994. Formation of the adult rudiment of sea-urchins is influenced by thyroid hormones. *Developmental Biology* 161: 1-11.
- Dickson R.C. 2008. New insights into sphingolipid metabolism and function in budding yeast. *Journal of Lipid Research* 49: 909–921.
- Dembitsky V.M., Srebnik M., 2002. Natural halogenated fatty acids: their analogues and derivatives. *Progress in Lipid Research* 41: 315–367.
- Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B., Roberfroid M.B. 1999. Scientific concepts of functional Foods in Europe: Consensus Document. *British Journal of Nutrition* 81: S1–S27.
- Du Y., Guo H., Lou H. 2007. Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 55: 1695-1701.
- Duval B., Shetty K., Thomas W.H. 1999. Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* after exposure to UV light. *Journal of Applied Phycology* 11: 559–566.
- Emiliani G., Fondi M., Fani R., Gribaldo, S. 2009. A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: a key adaptation of plants to land. *Biology Direct* 4: 7-19.
- Goiris K., Muylaert K., Fraeye I., Foubert I., De Brabanter J., De Cooman L. 2012. Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of Applied Phycology* (en prensa), DOI 10.1007/s10811-012-9804-6.
- Guedes, A.C., Amaro, H.M., Barbosa, C.R., Pereira, R.D., Malcata, F.X. 2011. Fatty acid composition of several wild microalgae and cyanobacteria, with a focus on eicosapentaenoic, docosahexaenoic and α -linolenic acids for eventual dietary uses. *Food Research International* 44, 2721–2729.
- Guschina I.A., Harwood J.L. 2009. Algal Lipids and Effect of the Environment on their

- Biochemistry. En: *Lipids in Aquatic Ecosystems*. Arts M.T., Brett M.T., Kainz M.J. (eds.): 1-24. Springer. Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Heyland A., Moroz L.L. 2005. Cross-kingdom hormonal signaling: an insight from thyroid hormone functions in marine larvae. *Journal of Experimental Biology* 208: 4355-4361.
- Klejdus A., Lojková L., Plaza M., Snóblová M.D., Sterbová D. 2010. Hyphenated technique for the extraction and determination of isoflavones in algae: Ultrasound-assisted supercritical fluid extraction followed by fast chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217: 7956–7965.
- Lang I., Hodac L., Friedl T., Feussner I. 2011. Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: a comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection. *BMC Plant Biology* 11: 124-136.
- Lee J.H., Ozcelik B., Min D.B. 2003. Electron Donation Mechanisms of β -Carotene as a Free Radical Scavenger. *Journal of Food Science* 68: 861-865.
- Lemoine Y., Schoefs B. 2010. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. *Photosynthesis Research* 106: 155–177.
- Li K., Li X.M., Gloer J.B., Wang B.G. 2012. New nitrogen-containing bromophenols from the marine red alga *Rhodomela confervoides* and their radical scavenging activity. *Food Chemistry* 135: 868–872.
- Manley S. L. 2002. Phyto genesis of halomethanes: A product of selection or a metabolic accident?. *Biogeochemistry* 60: 163-180.
- Maschek J.A., Baker B.J. 2007. The Chemistry of Algal Secondary Metabolism. En: *Algal Chemical Ecology*. Amsler C.D., (ed.): 1–24. Springer. Berlin.
- Muralidhar P., Radhika P., Krishna N., Rao D.V., Rao C.B. 2003. Sphingolipids from Marine Organisms: A Review. *Natural Products Science* 9: 117-142.
- Plaza M., Herrero M., Cifuentes A., Ibáñez E. 2007. Innovative Natural Functional Ingredients from Microalgae. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 57: 7159–7170.
- Pulz O., Gross W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology* 65: 635–648.
- Roberfroid M.B. 2002. Global view on functional foods: European perspectives. *British Journal of Nutrition* 88 (Suppl. 2): S133–S138.
- Shahidi F. 2009. Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. *Trends in Food Science and Technology* 20: 376-387.
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. 2006. Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101: 87–96.

- Summons R.E., Bradley A.S., Jahnke L.L., Waldbauer J.I. 2006. Steroids, triterpenoids and molecular oxygen. *Philosophical Transactions of The Royal Society* 361: 951-968.
- Tanaka I., Matsuoka S., Murata M., Tachibana K. 1998. A new ceramide with a novel branched-chain fatty acid isolated from the epiphytic dinoflagellate *Coolia monotis*. *Journal of Natural Products* 61: 685-688.
- Triantaphylide C., Havaux M. 2009. Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling. *Trends in Plant Science* 14: 219-228.
- Vairappan C.S., Suzuki M., Abe T., Masuda M., 2001. Halogenated metabolites with antibacterial activity from the Okinawan Laurencia species. *Phytochemistry* 58: 517-523.
- Van Bergeijk S.A., Hernández-Javier L., Manchado M., Heyland A., Cañavate J.P. Uptake of iodide in the marine microalga *Isochrysis aff. galbana* (T-iso) driven by iodide oxidation. *Journal of Phycology* (en evaluación).
- Volkman J.K. 2003. Sterols in microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 60: 495-506.
- Williams R.J., Spencer J.P., Rice-Evans C. 2004. Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules?. *Free Radical Biology and Medicine* 36: 838-849.
- Zhou B., Wu L.M., Yang L., Liu Z.L. 2005. Evidence for alpha-tocopherol regeneration reaction of green tea polyphenols in SDS micelles. *Free Radical Biology and Medicine* 38: 78-84.

Gestión del carbono en microalgas marinas cultivadas en fotobiorreactor

García-Fuentes¹ A., Forja² J., Lubián¹ L.M

¹Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC), Puerto Real, Cádiz, España.

²Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España.

luis.lubian@icman.csic.es.

RESUMEN

Se ha determinado la distribución del carbono en un fotobiorreactor a escala de laboratorio para las microalgas marinas *Nannochloris atomus*, *Synechococcus* sp. y *Tetraselmis chuii*, creciendo en cultivo semicontinuo, bajo diferentes condiciones de temperatura (20 y 25 °C) y pH (7,5; 8,0 y 8,5). El pH se controló a través de la inyección automática de CO₂. Se tomaron muestras diariamente para la medida de biomasa (peso seco), carbono orgánico disuelto (COD) y carbono inorgánico disuelto (CID). La concentración de CO₂ del gas de salida del reactor se cuantificó mediante un analizador infrarrojo de CO₂.

Dependiendo de las especies y condiciones ensayadas, los valores máximos del carbono fijado como biomasa estuvieron comprendidos entre 16,6 mmol C L⁻¹ d⁻¹ de *Synechococcus* sp. (pH 8,5; T 25°C) y 41,9 mmol C L⁻¹ d⁻¹ de *Nannochloris atomus* (pH 8,0; T 25°C), lo que supone una variación entre el 86,9 y el 76,1 %, respectivamente, del carbono total gestionado en sistema en cada caso. El porcentaje de CID varió entre el 5,2 % de *Tetraselmis chuii* (pH 7,5; T 20°C) y el 17,4 % de *Synechococcus* sp. (pH 8,0; T 30°C) y la contribución del COD al carbono total osciló entre el 2,0 % de *Tetraselmis chuii* y 5,1 % de *Synechococcus* sp., en las mismas condiciones de cultivo señaladas anteriormente.

La proporción de CO₂ liberado hacia la atmósfera desde el reactor osciló entre el 0 % en

Synechococcus sp. (pH 8,5; T 25°C) y el 12,4 % en *Nannochloris atomus* (pH 7,5; T 25°C), dependiendo principalmente del CO₂ suministrado para mantener el pH y la capacidad de las especies para fijar el carbono en las distintas condiciones de cultivo.

De las especies ensayadas, *Nannochloris atomus* ha dado los mejores resultados para una posible aplicación de las microalgas en la retirada de CO₂, apuntando a que los mecanismos de concentración de carbono (MCC) en las distintas especies, pueden jugar un papel significativo en la eficiencia de secuestro del mismo.

INTRODUCCIÓN

La concentración global de dióxido de carbono (CO₂) en la atmósfera ha aumentado considerablemente en la atmósfera como consecuencia de las actividades humanas (Song, 2006), siendo el principal gas de efecto invernadero. A lo largo de las últimas décadas, se han investigado varias estrategias de mitigación encaminadas a reducir las concentraciones de este gas en la atmósfera. Una de estas estrategias está basada en la fijación natural, llevada a cabo mediante la fotosíntesis oxigénica, en todas las plantas terrestres así como un gran número de microorganismos fotosintéticos. La fotosíntesis que ocurre en los océanos es responsable de aproximadamente un 40 % de la cantidad total de carbono fijada en el planeta (Falkowski, 1997). Basados en este sistema biológico, se han desarrollando proyectos que sugieren que la biofijación de CO₂ por microalgas en fotobiorreactores es una estrategia efectiva, ya que el CO₂ se incorpora en la estructura molecular de las células en forma de proteínas, carbohidratos y lípidos por medio de reacciones fotosintéticas (Cuaresma *et al.*, 2006). Las ventajas de estos procesos radican en la gran eficiencia fotosintética de las microalgas en comparación con las plantas superiores, su resistencia a altas concentraciones de CO₂ y la posibilidad de controlar las condiciones de cultivo. Además, la biomasa producida por la bioconversión de CO₂ se puede utilizar como stock para una gran variedad de aplicaciones, tales como la producción de biofuels, como complementos alimentarios, uso farmacéutico y cosmético, lo cual representa un beneficio añadido al proceso de mitigación (Ho *et al.*, 2011).

Un fotobiorreactor a escala de laboratorio es el primer paso esencial antes de llevar los cultivos a escala industrial. El objetivo de este trabajo ha sido investigar el efecto de diferentes condiciones de cultivo (pH y temperatura) en la fijación de CO₂ por diferentes especies de microalgas con diferentes mecanismos concentradores de carbono (MCC), y evaluar la compartimentación del carbono en el sistema para cada alga y condición estudiada.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. CULTIVO DE MICROALGAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Las cepas de *Nannochloris atomus* (Chlorophyceae), *Synechococcus* sp. (Cyanobacteria) y *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae) procedieron de la Colección de Cultivos de Microalgas Marinas del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC).

Las microalgas se inocularon en un fotobiorreactor (FBR) comercial (BIOSTAT® PBRs -2S, Sartorius Stedim Biotech) de 3L de capacidad. El sistema de iluminación consistió en ocho lámparas fluorescentes de 18W y 24h de luz, que daba una intensidad máxima de irradiancia en la superficie del cultivo de $250 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La temperatura se mantuvo constante mediante una camisa térmica y el pH se controló mediante la inyección automática de CO_2 . Además, iban acoplados sensores de densidad óptica, temperatura y oxígeno disuelto, que tomaban los datos en continuo. Una bomba peristáltica generaba un flujo constante de $3,2 \text{ L min}^{-1}$ (Fig. 1).

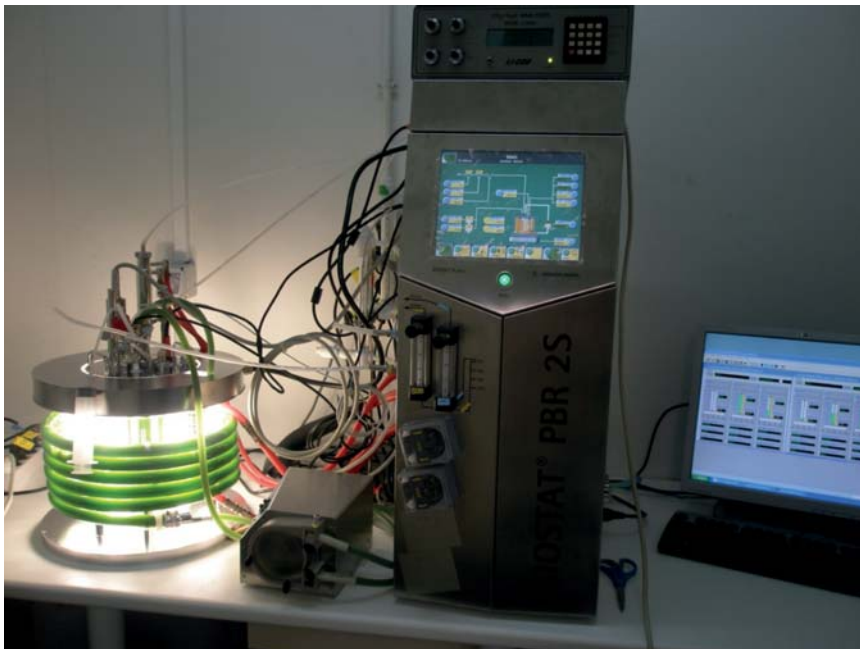


Figura 1.- Sistema del fotobiorreactor.

Los cultivos se realizaron en medio f/2 (Guillard, 1975) al que periódicamente se añadían nutrientes para que no constituyeran el factor limitante del crecimiento (fed-batch) y se ensayaron tres temperaturas (20, 25 y 30 °C), y tres valores de pH (7,5, 8,0 y 8,5). Con cada combinación de variables y antes de que finalizara la fase exponencial, el régimen del cultivo fue cambiado a uno semicontinuo en el que cada 24 horas se realizaban diluciones del mismo en función de la tasa de crecimiento, de manera que la densidad de células se mantuviera constante dentro de un cierto intervalo. Antes de cada dilución se tomaban las muestras para los distintos análisis con el material celular, y esta situación de equilibrio del cultivo se mantuvo al menos tres días, que fueron consideradas como réplicas, para cada condición.

2. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

La densidad celular se calculó mediante recuento de las células por observación directa al microscopio en un hematocitómetro Neubauer. El peso seco de la muestra se determinó mediante filtración de un determinado volumen de cultivo a través de filtros Whatman GF/F previamente lavados con agua destilada, calcinados a 450° durante 5h y tarados. Una vez filtrado, los filtros se lavaron con formiato amónico al 0.9% y se secaron durante 72h en estufa a 70°C para la determinación del peso seco.

Las muestras para las medidas de carbono fueron centrifugadas. El sobrenadante se filtró a través de filtros Whatman GF/F, para su posterior análisis de carbono orgánico (COD) e inorgánico (CID) disueltos. Las medidas de carbono orgánico disuelto se realizaron en un TOC-VCPH Total organic carbon analyzer, SHIMADZU. Las de carbono inorgánico disuelto, se midieron mediante valoración potenciométrica (Metrohm 794) utilizando un electrodo combinado de vidrio (Metrohm, ref. 6.0210.100). El pellet se lavó con formiato amónico al 0.9%, se liofilizó, y se midió su contenido en carbono con un analizador Flash 1112 Series EA CHNS analyzer (Thermo CE Instruments).

Otra muestra se centrifugó para la determinación de nutrientes, y se midieron en un espectrofotómetro PYE UNICAM PS6-550 UV/VIS Spectrophotometer, Philips. El hierro se cuantificó según el método propuesto por Koroleff y Kremling (1999). Los nitratos se determinaron mediante el método de Collos *et al.* (1999), y los fosfatos, con el método de Grasshoff (1983).

La concentración de CO₂ en el gas de salida del reactor procedente del proceso de desgasificación se midió de modo continuo mediante un analizador infrarrojo de CO₂ (LI-6262 CO₂/H₂, LI-COR Biosciences).

RESULTADOS

En la tabla I se resumen los resultados más relevantes obtenidos. Los valores máximos del carbono total utilizado en cada cultivo de microalga han sido 55, 19 y 44 mmol C L⁻¹ d⁻¹ para *N. atomus* (pH=7,5; T=25°C), *Synechococcus* sp. (pH=8,5; T=25°C) y *T. chuii* (pH=7,5; T=25°C), respectivamente. Los rendimientos en cuanto a biomasa fijada han estado en general por encima del 80 %, salvo alguna excepción. En este sentido cabe destacar que aunque en *N. atomus* el porcentaje fijado a pH 7,5 y 25 °C ha sido el más bajo respecto al obtenido con el resto de las condiciones, en términos de carbono fijado ha sido el mayor de todos (41,8 mmol C L⁻¹ d⁻¹), incluidas las otras especies.

Tabla I.- Flujo de carbono total y su distribución en el sistema para cada condición de cultivo, en las tres microalgas estudiadas (medias±desviación estándar, n=3).

	pH	T (° C)	C total (mmol L ⁻¹ d ⁻¹)	% Biomasa	% CID	% COD	% CO ₂ retorno
<i>N. atomus</i>	8,5	20	20,6±0,3	81,2±4,8	14,2±4,4	3,8±0,2	1,1±0,3
	8,0	20	36,1±1,5	82,5±1,0	8,7±0,4	2,4±0,3	6,4±0,3
	8,0	25	43,4±3,8	87,5±0,6	7,3±0,9	2,1±0,5	3,2±0,4
	7,5	25	55,0±2,5	76,1±4,7	9,2±3,9	2,4±0,5	12,4±0,8
<i>Synechococcus</i> sp.	8,5	25	19,1±1,8	86,9±0,4	9,6±0,3	3,6±0,5	0,0
	8,5	30	16,7±0,4	83,4±1,5	11,7±0,7	4,6±0,7	0,3±0,2
	8,0	30	19,3±3,0	69,7±3,7	17,4±2,2	5,1±0,6	7,7±1,1
<i>T. chuii</i>	8,0	20	37,1±1,0	83,6±2,7	8,4±3,5	4,0±0,5	4,1±0,3
	7,5	20	44,0±2,5	83,3±3,9	5,2±0,6	2,0±0,6	9,5±3,9

El porcentaje de CID siempre ha sido mayor (5-17 %) que el COD (2-5 %), mientras que el carbono liberado de nuevo como CO₂ ha oscilado entre el 0 % y el 8 %, excepto en los cultivos a pH 7,5 en los que ha superado el 10 %.

DISCUSIÓN

Para facilitar la incorporación del carbono inorgánico disuelto al interior de la célula y acceder al sitio activo de la enzima responsable de su fijación (RuBisCo), que solo utiliza CO_2 como sustrato, las algas han desarrollado a lo largo de su evolución diferentes MCC. En las especies marinas, además de las barreras que dificultan la entrada difusiva del gas, hay que añadir que la especie de carbono predominante en un medio alcalino como el agua de mar es bicarbonato. Los MCC incluyen varias estrategias que incluyen mecanismos enzimáticos como la anhidrasa carbónica interna (ACint), que acelera la restauración del equilibrio carbónico-bicarbonato-carbonato y, en algunos casos, también existe una AC que puede actuar en la superficie celular (ACext). Otros mecanismos consisten en sistemas de transporte activo transmembranal para ambas especies de carbono. Por ello, uno de los objetivos de este trabajo era comprobar si especies de microalgas con distintos MMC en combinación con diferentes pH y temperaturas, presentaban las mismas capacidades de fijación del carbono y si influía en el balance final del CO_2 utilizado en el sistema de cultivo.

Esto ha motivado la elección de las tres especies estudiadas. *N. atomus* tiene un transportador activo de CO_2 (Huertas *et al.*, 1998; 2000), mientras que *T. chuii* lo tiene de bicarbonato y además posee ACext (De Marchi, 1997), y finalmente, *Synechococcus* sp. incorpora activamente bicarbonato pero carece de ACext (Badger y Andrews, 1982).

El crecimiento de la población y la biomasa producida es crucial para la capacidad de retirada del CO_2 ya que los resultados indican que, en nuestras condiciones, está en torno al 80 % del total de carbono gestionado. Se ha procurado que los únicos factores externos limitantes del crecimiento, sean el pH y la temperatura, además de la irradiancia que es constante e igual para todos los experimentos. Se ha hecho un seguimiento diario de los nutrientes mayoritarios para que no hubiera limitación por consumo y el único aspecto que se ha dejado a criterio ha sido el instante de iniciar el cultivo semicontínuo. Durante la fase exponencial, se puede iniciar en cualquier momento, ajustando la tasa de renovación (dilución) a la de crecimiento, pero hay que tener en cuenta que la producción de biomasa y, por tanto, la cantidad de CO_2 fijada depende de las densidades de células entre las que se trabaja.

En esta gestión es importante la dosificación del CO_2 y el diseño del fotobiorreactor, para que el gas quede retenido en el sistema el tiempo suficiente para su asimilación. En nuestro caso el CO_2 se inyectaba a la entrada del serpentín del FBR con un recorrido que supone el 60 % del volumen total del mismo, obteniendo una buena eficiencia. El retorno del CO_2 a la atmósfera solo ha superado el 10 % al pH más bajo ensayado en *N. atomus*, aunque se podría haber mejorado si hubiéramos dispuesto de un caudalímetro adecuado. Este hecho, ha

derivado en una proporción menor del carbono fijado por esta especie, respecto al resto de las condiciones estudiadas, pero aún así en términos de cantidad de carbono secuestrado como biomasa es la mayor de todas.

Los cultivos con *T. chuii* a temperatura de 20 °C dan también buenos resultados, en particular a un pH de 7,5, pero ya a 25 °C los cultivos se vuelven muy inestables, sin la reproducibilidad requerida, y en consecuencia no se han considerado.

Con *Synechococcus* sp., se obtienen unos crecimientos poblacionales comparables e incluso superiores a los de las otras dos especies (datos no mostrados). La proporción de carbono como biomasa del total gestionado es también del mismo orden, y sin embargo en términos de cantidad de carbono es sensiblemente menor. La explicación está en que el porcentaje de carbono respecto al peso seco es menor (38 %) que en *N. atomus* (47 %) y *T. chuii* (44 %), a lo que hay que sumar una mayor proporción de CID y COD.

Muchos autores han evaluado la retirada de CO₂ en forma de biomasa por parte de diferentes especies de microalgas marinas y en diferentes condiciones (Chiu *et al.*, 2008; Greque de Moraes y Costa, 2007; Jacob-Lopes *et al.*, 2008; 2010) pero no hay apenas estudios en los que se midan todos los compartimentos del carbono en un cultivo. Normalmente se suelen ignorar el COD y el retorno del CO₂ a la atmósfera con lo que es difícil cerrar el balance del carbono gestionado. En esta ocasión se han hecho medidas en todos ellos, aún siendo conscientes de que puede haber un cierto margen de error, debido a imprecisiones en algunas de las medidas. El mayor error está sin duda en la estimación del peso seco celular, que en microalgas marinas requiere la eliminación de las sales disueltas en el agua de mar, de manera que no afecte a las células por problemas de ósmosis. La otra fuente de error es la interferencia de las bases orgánicas excretadas al medio por las microalgas y que pueden contribuir a la alcalinidad del mismo. Así pues, puede existir un cierto solapamiento entre las medidas de CID y COD. En la actualidad, estamos realizando un estudio enfocado a identificar y cuantificar estas bases orgánicas.

Respecto a la influencia de los MCC en la capacidad de fijación de carbono en función del pH, sólo en *N. atomus*, que posee solo un mecanismo activo de entrada, se ve que la disminución del pH tiene un efecto positivo, a pesar de que la proporción respecto al total sea menor, debido indudablemente a la defectuosa dosificación de CO₂ en este caso, como ya se ha comentado. En *T. chuii*, la presencia de dos sistemas de concentración puede que haga que el pH no tenga tanta influencia. El efecto de esta enzima se notaría algo más a pH más ácido, aumentando la concentración de CO₂ en el medio y facilitando la entrada de CO₂ al interior de la célula por simple difusión.

Con los datos obtenidos y sin tener en cuenta las restricciones que impone el escalado a nivel industrial, se puede inferir que una planta con fotobiorreactores con los mismos rendimientos que el nuestro, a lo largo de todo un año, con un volumen total de 250 m³ pueden producir 100 t de microalgas (peso seco) que son capaces de secuestrar como biomasa 175 t de CO₂.

CONCLUSIONES

La capacidad de fijación de CO₂ como biomasa en cultivos de microalgas marinas se puede considerar que se encuentra entre el 80 y 90 % del CO₂ suministrado al sistema, siempre que la dosificación del mismo y las condiciones del cultivo sean las óptimas para el crecimiento poblacional. El carbono disuelto supone un porcentaje no despreciable que puede oscilar entre el 10 y 20 %.

No obstante, la elección de la/s especies con un alto contenido en carbono celular, así como el conocimiento de sus mecanismos concentradores de carbono resultan cruciales para optimizar los sistemas de captación del CO₂ mediante este procedimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Badger M.R., Adrews, T.J. 1982. Photosynthesis and inorganic carbon usages by the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. *Plant Physiology* 70: 517-523.
- Chiu S.Y., Kao C.Y., Chen C.H., Kuan T.C., Ong S.C., Lin, C.S. 2008. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technology* 99: 3389-3396.
- Collos Y., Monet F., Sciandra A., Waser N., Larson A., Harrison P.J. 1999. An optical method for the rapid measurement of micromolar concentrations of nitrate in marine phytoplankton cultures. *Journal of Applied Phycology* 11: 179-184.
- Cuaresma M., Garbayo I., Vega J.M., Vilchez, C. 2006. Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto river. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 158-162.
- De Marchi, R. 1997. Photosynthetic characteristics of the marine microalgae *Tetraselmis chuii*. Honours Thesis. York University, Canadá.

- Falkowski P.G. 1997 . Photosynthesis: the paradox of carbon dioxide efflux. *Current Biology* 7: 637-639.
- Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K. 1983. *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie., pp. 419.
- Greque de Morais M., Costa, J.A.V. 2007. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnology Letters* 29: 1349-1352.
- Guillard R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: *Culture of Marine invertebrate animals*. Smith W.L., Chanley M. H. (eds.). Plenum Book Publ. Corp.. pp. 29-60.
- Ho S.H., Chen C.Y., Lee D.J., Chang, J.S. 2011. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems - A review. *Biotechnology Advances* 29: 189-198.
- Huertas I.E., Lubián, L.M. 1998. Comparative study of dissolved inorganic carbon utilization and photosynthetic responses in *Nannochloris* (Chlorophyceae) and *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) species. *Canadian Journal of Botany* 76: 1104-1108.
- Huertas I.E., Colman B., Espie G.S., Lubián, L.M. 2000. Active transport of CO₂ by three species of marine microalgae. *Journal of Phycology* 36: 314-320.
- Jacob-Lopes E., Lacerda L.M.C.F., Franco T.T. 2008. Biomass production and carbon dioxide fixation by *Aphanothece microscopica* Näegli in a bubble column photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal* 40: 27-34.
- Jacob-Lopes E., Scoparo C.H.G., Queiroz M.I., Franco, T.T. 2010. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. *Energy Conversion and Management* 51:894-900.
- Koroleff F., Kremling K. 1999. Iron. En: *Methods of seawater analysis*. Grasshoff K., Kremling K., Ehrhardt M. (eds.). Wiley-VCH., pp.340-341.
- Song C. 2006. Global challenges and strategies for control, conversion and utilization of CO₂ for sustainable development involving energy, catalysis, adsorption and chemical processing. *Catalysis Today* 115: 2-32.

Utilización de *Scenedesmus almeriensis* como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en piensos para juveniles de dorada

Jiménez¹ J.A., Vizcaíno¹ A.J., Barros¹ A., Hidalgo¹ L., Cerón² M.C., Camacho² J., Martínez¹ T.F., Moriñigo³ M.A., López-Figueroa³ F., Mancera⁴ J.M., Alarcón¹ F.J.

¹ Dpto. Biología Aplicada, Universidad de Almería-CEIA₃, España.

² Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Almería-CEIA₃, España.

³ Facultad de Ciencias, Campus Teatinos, Universidad de Málaga.

⁴ Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz.

falarcon@ual.es

PALABRAS CLAVE

Composición química, crecimiento, dorada, microalgas, *Scenedesmus almeriensis*.

RESUMEN

En el presente estudio se evalúa el potencial de la microalga *Scenedesmus almeriensis* como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en la alimentación de los juveniles de *Sparus aurata*. Se ha evaluado 1) el crecimiento de los peces y el aprovechamiento nutritivo, 2) la influencia en la composición química y en el perfil de ácidos grasos de los peces, 3) los efectos que ejerce en la estructura del hígado e intestino, y finalmente, 4) se realiza una valoración económica del empleo de *S. almeriensis* en piensos para acuicultura. En el experimento *in vivo* se ensayaron cinco piensos experimentales en los que se substituyó la proteína

de la harina de pescado por biomasa liofilizada de *S. almeriensis* a distintos niveles (0, 25, 37, 50 y 75%). Estos piensos fueron suministrados a 225 ejemplares de dorada repartidos al azar en grupos de 15 animales y por triplicado. Los piensos experimentales se administraron hasta que los peces triplicaron su peso inicial. Al final todos los peces fueron pesados y se tomaron muestras para determinar la composición proximal, el perfil de ácidos grasos, y realizar un análisis estructural de los tejidos hepático e intestinal. Los resultados obtenidos indican que la utilización de esta microalga no ejerce efectos negativos en ninguno de los parámetros zootécnicos, ni altera la composición proximal de los peces. La inclusión de la microalga incrementó el nivel de ácidos grasos de la serie n-3, especialmente de linolénico, en el tejido muscular de los peces. Por su parte, la estructura tisular del hígado e intestino tampoco se vio afectada, evidenciándose un incremento de la longitud de las vellosidades intestinales con la utilización de *S. almeriensis*. Bajo las condiciones ensayadas, los datos permitieron concluir que el nivel óptimo de sustitución de la proteína de la harina de pescado, por biomasa de *S. almeriensis*, en piensos para juveniles de dorada es de un 37%. Por último, el análisis económico reflejó que la sustitución de la harina de pescado por biomasa de *S. almeriensis* en piensos para piscicultura marina es factible, aunque sería deseable una reducción en el coste de producción de las microalgas.

INTRODUCCIÓN

La utilización de la harina de pescado como fuente de proteína mayoritaria en los piensos para acuicultura puede llegar a ocasionar un incremento en los costes de producción a la par que determina que este sector no llegue a ser una actividad sostenible, al precisar para su crecimiento de mayor cantidad de derivados de la pesca extractiva. Por ello, la búsqueda de fuentes proteicas alternativas tiene hoy día un enorme interés en nutrición acuícola. En este contexto, las harinas de microalgas pueden ser una alternativa potencial a la harina de pescado (Nandeeshia *et al.*, 2001), ya que poseen un alto contenido proteico, son la fuente de alimento natural de numerosas especies marinas, contienen niveles altos de ácidos grasos poliinsaturados, aminoácidos, vitaminas y minerales, y son una excelente fuente de pigmentos naturales (Spolaore *et al.*, 2006). Concretamente, el uso de *Scenedesmus almeriensis* como ingrediente proteico alternativo a la harina de pescado podría resultar interesante, debido a su alto porcentaje de proteína y su riqueza en pigmentos (González *et al.*, 2010), siendo estos últimos escasos en la mayoría de los ingredientes proteicos utilizados en piensos para peces (Spolaore *et al.*, 2006). Adicionalmente, y en el marco de la política general de mejora de la sostenibilidad y calidad de los productos de acuicultura, las microalgas tienen un enorme potencial en la sustitución de algunos de los componentes de los piensos de engorde de

peces. Con base en lo anteriormente expuesto, el objetivo general del presente estudio es realizar una evaluación global del potencial de la microalga *Scenedesmus almeriensis* para ser utilizada como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en piensos para juveniles de dorada, *Sparus aurata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Un total de 225 juveniles de dorada (*Sparus aurata*) se sometieron a una fase de aclimatación en las instalaciones del acuario experimental de la Universidad de Almería, alimentándolos con un pienso comercial hasta alcanzar los 20g de peso. A continuación se separaron en 15 tanques de polipropileno (15 individuos por tanque) y fueron alimentados con cinco piensos experimentales (3-4% de la biomasa total del tanque) en dos tomas al día (9:00 y 13:00 horas) durante 60 días. Las condiciones de salinidad y temperatura oscilaron entre el 23-28‰ y los 17-19°C, respectivamente. Los piensos experimentales fueron preparados en el Servicio de Piensos Experimentales UAL-CEIA₃ (http://www.ual.es/stecnicos_spe), y se formularon sustituyendo el 0, 25, 37, 50 y 75% (tratamientos: CT, SC25, SC37, SC50 y SC75, respectivamente) de la proteína de la harina de pescado por proteína procedente de la microalga *Scenedesmus almeriensis*. La biomasa algal fue proporcionada por la Estación Experimental “Las Palmerillas” de la Fundación CAJAMAR (La Mojonera, Almería).

TOMA DE MUESTRAS

Los días de toma de muestras se procedió a anestésiar a los peces en un baño de aceite de clavo (2 ppm), y a continuación se sacrificaron mediante una incisión en la columna vertebral a la altura de los opérculos. Se midió la longitud de cada uno de los individuos mediante un ic-tiómetro, posteriormente se pesaron en una balanza de precisión, a continuación se extrajeron las vísceras y se anotó el peso del intestino, el hígado y la carcasa. Tanto los hígados como las carcasas se congelaron a -20°C y se liofilizaron, para, posteriormente, volver a utilizarse en posteriores análisis. También se prepararon 5 muestras de intestino distal, intestino proximal e hígado de cada unidad experimental, para su análisis histológico.

DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

A partir de los datos obtenidos en el apartado anterior se calcularon los siguientes parámetros zootécnicos y morfométricos: Incremento de peso (WG) = $(P_f/P_i) \times 100$; Tasa de crecimiento específico (SGR) (%) = $(\ln(P_f) - \ln(P_i) / \text{días}) \times 100$, donde P_f y P_i son el peso fresco final e inicial y t es la duración del ensayo en días; Tasa de crecimiento absoluto (AGD) (g día^{-1}) = $(P_f - P_i) / \text{días}$; Factor de condición (K) = $(P_f / \text{longitud final}^3) \times 100$; Índice viscerosomático (IV) (%) = $(\text{peso seco del digestivo} / \text{peso seco del individuo}) \times 100$; Índice hepatosomático (IH) (%) = $(\text{peso seco del hígado} / \text{peso seco del individuo}) \times 100$; Índice de conversión (IC) = $\text{g de pienso suministrados} / \text{incremento de biomasa}$; Eficiencia alimentaria = $1 / \text{IC}$.

DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN PROXIMAL Y DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

Para la determinación de la composición proximal se homogeneizaron la totalidad de las carcasas previamente liofilizadas y una muestra de cada uno de los piensos utilizados. La composición proximal de los piensos y de las muestras de tejidos se determinó analizando su contenido en agua, proteína cruda, lípidos totales y cenizas utilizando métodos estandarizados, y por diferencia se estimó el contenido de carbohidratos.

Para la extracción de ácidos grasos se usaron muestras de músculo e hígado de la totalidad de las doradas, previamente liofilizadas, junto con las muestras de cada uno de los piensos experimentales, utilizando el protocolo descrito por Rodríguez *et al.* (1998).

ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LOS TEJIDOS

Las muestras de hígado e intestino fueron fijadas en solución Davidson, incluidas en parafina, cortadas en un microtomo ($6 \mu\text{m}$), y teñidas con hematoxilina-eosina para la observación histomorfológica. Se analizó la morfometría del tejido hepático e intestinal a partir de las imágenes obtenidas al microscopio óptico. En concreto se determinó el área y la longitud del diámetro mayor de los hepatocitos, y la altura de las vellosidades y de los enterocitos en las preparaciones de intestino, empleando el programa de software libre UTHSCA ImageTool (Universidad de Texas HealthScience Center, San Antonio, TX).

ANÁLISIS DEL COSTE MÁXIMO ACEPTABLE

El cálculo del coste máximo aceptable de los piensos elaborados con distintas proporciones de harina de *S. almeriensis* se estimó según Belarbi *et al.* (2000). Para el cálculo se

consideraron dos precios hipotéticos, i) por un lado un valor de 7 €/kg que ha sido propuesto para la biomasa de *Phaeodactylum tricornutum* que es una microalga cuya composición bioquímica es muy similar a *S. almeriensis* (Belarbi *et al.*, 2000) y, ii) de otro 12,6 €/kg propuesto por Ación *et al.* (2012) para esta misma especie cuando se producen en planta 200 t de biomasa algal/año.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores presentados en las tablas corresponden a la media \pm desviación estándar (sd) de al menos tres determinaciones. El análisis estadístico fue realizado con ANOVA de una vía en los datos con distribución paramétrica o Kruskal-Wallis en aquellas variables con distribución no paramétrica. En el caso de que las variables presentaran diferencias significativas entre los valores medios de los distintos tratamientos, estos últimos fueron analizados mediante test de comparación múltiple; i) test de Tukey para los datos paramétricos, o ii) mediante una gráfica de cajas y barras (*Box and Whisker Plot*) para los no paramétricos. Todos los análisis fueron realizados con un nivel de significación de 0,05. Por último se utilizó un análisis multivariante clúster. Los distintos parámetros fueron considerados como variables diferentes, y por lo tanto el efecto de cada fórmula alimenticia fue analizado por un número elevado de variables. Este tipo de análisis determina la similitud entre los distintos tratamientos al proporcionar un dendrograma en el que se agrupan éstos en función de la distancia que hay entre ellos.

RESULTADOS

CRECIMIENTO Y APROVECHAMIENTO DE LOS PIENSOS

La tabla I muestra los resultados del estudio zootécnico. En general, los peces del tratamiento SC37 mostraron valores medios mayores en la mayoría de los índices zootécnicos que en el resto de tratamientos, a excepción de los registrados en los parámetros IVS y el IHS, en los que el tratamiento control (CT) presentó valores más altos. Cuando los piensos incluyeron niveles de sustitución superiores al 50% se observó una reducción significativa en el peso final, y en los valores de ADG, WG, IVS e IHS. De los peces alimentados con microalgas, los del tratamiento SC25 mostraron valores más bajos en todos los parámetros zootécnicos, a excepción de los registrados para IHS que fueron ligeramente mayores que en los peces alimentados con SC75. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos

ni en la longitud final ni en el factor de conversión, si bien en SC37 se encontraron valores medios más altos en ambos parámetros.

Tabla I.- Crecimiento, índices de aprovechamiento nutritivo e índices morfométricos de los ejemplares juveniles de *S. aurata* alimentados con piensos experimentales que incluyen distintos niveles de biomasa de *S. almeriensis*.

	CT	SC25	SC37	SC50	SC75
P_i (g)	8,23 ± 1,53	8,37 ± 1,45	8,29 ± 1,48	8,21 ± 1,28	8,15 ± 1,40
P_r (g)	25,01 ± 3,83 ^{ab}	23,37 ± 3,57 ^a	26,56 ± 3,50 ^b	24,96 ± 2,85 ^{ab}	24,13 ± 4,43 ^a
SGR	1,46 ± 0,07 ^{ab}	1,30 ± 0,04 ^a	1,57 ± 0,08 ^b	1,46 ± 0,05 ^{ab}	1,40 ± 0,08 ^{ab}
ADG	0,18 ± 0,01 ^{ab}	0,16 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,01 ^b	0,18 ± 0,01 ^{ab}	0,10 ± 0,01 ^a
FER	0,52 ± 0,06 ^{ab}	0,47 ± 0,01 ^a	0,59 ± 0,01 ^b	0,54 ± 0,04 ^b	0,53 ± 0,05 ^{ab}
IC	1,92 ± 0,22 ^{ab}	2,11 ± 0,06 ^b	1,70 ± 0,03 ^a	1,86 ± 0,14 ^{ab}	1,91 ± 0,18 ^{ab}
WG (%)	303,9 ± 6,9 ^{ab}	279,2 ± 3,7 ^a	320,4 ± 8,3 ^b	304,0 ± 4,6 ^{ab}	296,1 ± 7,8 ^a
IVS	8,04 ± 0,92 ^b	7,31 ± 1,05 ^{ab}	7,99 ± 1,25 ^b	7,47 ± 1,01 ^b	7,32 ± 1,07 ^a
IHS	2,30 ± 0,38 ^b	2,09 ± 0,44 ^b	2,23 ± 0,45 ^b	2,06 ± 0,36 ^b	1,82 ± 0,39 ^a
FC	2,43 ± 0,15	2,39 ± 0,24	2,47 ± 0,29	2,37 ± 0,15	2,36 ± 0,17

Los valores representan la media ± sd (n = 45). Dentro de cada fila las diferencias significativas entre tratamientos para un mismo parámetro se indican con distintos superíndices ($P < 0,05$).

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS PECES

La tabla II muestra la composición proximal de las carcasas de los peces. Los resultados reflejan que la inclusión de *S. almeriensis* no modificó la composición química de las doradas de manera significativa. No obstante, los valores más altos de proteína se encontraron en los ejemplares alimentados con SC37, aunque sin presentar diferencias significativas respecto al resto de grupos. En cuanto al contenido lipídico, tampoco se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla II.- Composición proximal (% materia seca) de las carcasas de los ejemplares juveniles de *S. aurata* al final del bioensayo. Los valores representan la media \pm sd (n = 3).

Tratamiento	Proteínas totales	Lípidos totales	Cenizas
CT	73,67 \pm 4,15	17,2 \pm 4,47	8,93 \pm 0,23
SC25	72,82 \pm 3,64	17,74 \pm 4,16	9,09 \pm 0,43
SC37	74,96 \pm 1,11	15,52 \pm 1,28	9,37 \pm 0,49
SC50	72,94 \pm 5,22	17,60 \pm 5,90	9,11 \pm 0,68
SC75	74,42 \pm 5,39	15,90 \pm 5,84	9,36 \pm 0,50

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LOS TEJIDOS DE LOS PECES

La figura 1 ilustra la variación en el contenido de algunos ácidos grasos en los tejidos analizados, y se comparan con los perfiles del alimento. Se puede apreciar la existencia de cierto paralelismo entre el patrón de variación del alimento y el de los tejidos. Este paralelismo se ve reflejado en el aumento en los ácidos grasos linoleico y alfa linolénico, así como en los ácidos grasos n-3 y n-6, y en un ligero descenso en los niveles de EPA y DHA. De igual forma, los resultados obtenidos revelan que el patrón de ácidos grasos del músculo es más estable que el del tejido hepático.

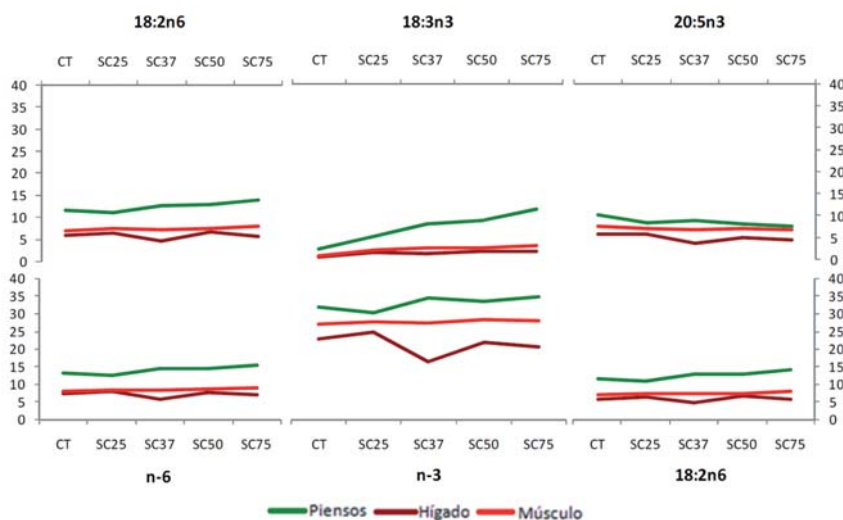


Figura 1.- Variación comparada de algunos ácidos grasos (% del total) en el alimento y en los tejidos de los ejemplares de *S. aurata*.

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL HÍGADO E INTESTINO

La estructura tisular del hígado no mostró la existencia de alteraciones como consecuencia de la ingesta de piensos que incluyesen *S. almeriensis*. Los peces alimentados con microalgas mostraron hepatocitos normales, con núcleos evidentes y con patentes nucleolos, y una abundante ramificación de los capilares y sinusoides, observándose en general una estructura tisular compacta. Los acinos pancreáticos contenidos en hígado presentaron una apariencia normal con patentes gránulos de zimógeno. A partir de las imágenes obtenidas al microscopio del hígado se estimó la longitud del eje mayor y el área de los hepatocitos (Tabla III). En general, los hepatocitos de los peces alimentados con SC50 presentaron un tamaño menor que en el resto de los tratamientos. Los valores del eje mayor fueron menores en SC50, aunque solo con diferencias significativas respecto a los peces de SC75. Por su parte, el área de los hepatocitos fue significativamente menor en SC50 ($P < 0,05$).

El estudio histológico de la estructura tisular del intestino reveló que tampoco se producen alteraciones de la estructura tisular. La tabla IV muestra los valores resultantes tras las mediciones efectuadas en las preparaciones histológicas. Todos los peces alimentados con piensos que incluyen harina algal mostraron una longitud mayor de las vellosidades en el intestino distal. La altura de los enterocitos fue mayor en los peces alimentados con *S. almeriensis*, aunque sin presentar diferencias significativas respecto al control.

Tabla III.- Longitud del eje mayor y área de los hepatocitos en los ejemplares de *S. aurata* (media \pm sd, n = 4 individuos). En cada variable las diferencias significativas se indican con distintos superíndices ($P < 0,05$).

Tratamiento	Longitud del eje mayor (μm)				Área (μm^2)			
SC25	21,82	\pm	3,00	ab	238,55	\pm	55,13	b
SC37	21,50	\pm	3,25	ab	230,88	\pm	68,51	b
SC50	19,96	\pm	2,49	a	192,85	\pm	42,93	a
SC75	22,09	\pm	3,16	b	234,46	\pm	45,56	b

ANÁLISIS GLOBAL DE LOS RESULTADOS

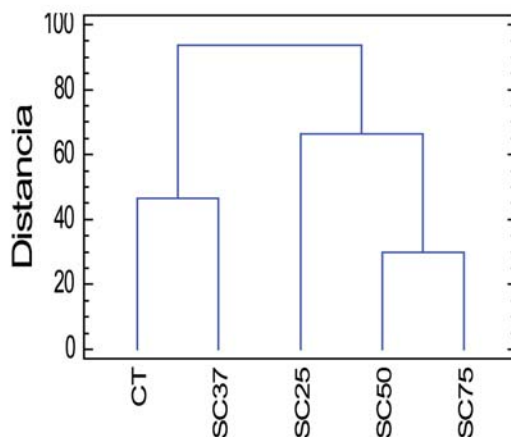
Con el propósito de realizar una evaluación global del agrupamiento de los distintos tratamientos experimentales y ver la similitud entre ellos, se realizó un análisis de clúster considerando todas las variables en conjunto (parámetros zootécnicos, datos del estudio histológico,

composición proximal y ratio entre ácidos grasos del músculo y el hígado). Los resultados obtenidos se muestran en la figura 2, y evidencian la cercanía de SC37 respecto al control.

Tabla IV.- Altura de las vellosidades y de los enterocitos del intestino de los ejemplares de *S. aurata* (media \pm sd, n = 4 individuos). Las diferencias significativas se indican con distintos superíndices ($P < 0,05$).

		Altura de las vellosidades (μm)			Altura de los enterocitos(μm)		
Intestino proximal	CT	560,61	\pm 174,87		35,97	\pm 9,08	ab
	SC25	533,67	\pm 228,92		38,01	\pm 7,36	ab
	SC37	451,20	\pm 144,29		32,74	\pm 9,38	a
	SC50	526,59	\pm 189,21		44,31	\pm 6,70	b
	SC75	618,15	\pm 201,87		43,40	\pm 8,97	ab
Intestino distal	CT	334,90	\pm 125,51	a	41,81	\pm 12,87	ab
	SC25	450,06	\pm 153,05	ab	48,24	\pm 15,64	b
	SC37	560,61	\pm 174,87	bc	35,97	\pm 9,08	a
	SC50	566,95	\pm 145,09	bc	46,12	\pm 7,18	ab
	SC75	657,85	\pm 92,95	c	42,13	\pm 16,05	ab

Figura 2.- Resultado del análisis de clúster multivariante con todos los datos obtenidos en el estudio.



EVALUACIÓN ECONÓMICA

La tabla V recoge los datos de la evaluación económica derivada de sustituir la harina de pescado por biomasa de *S. almeriensis* en los piensos para juveniles de dorada. La diferencia de precio de mercado entre los derivados del pescado y la biomasa algal determina que se produzca un notable sobrecoste del producto final a medida que se incrementan los niveles de microalga en el pienso, a pesar de que paralelamente se reduce la proporción de materias primas derivadas de la pesca extractiva. Cuando se utiliza un nivel de sustitución del 25%, el precio hipotético del pienso se incrementa entre 0,7 y 1,4 veces (según el precio de la biomasa algal considerado) en comparación con un alimento elaborado básicamente con derivados del pescado. En la figura 3 se representa el coste máximo aceptable para los piensos elaborados con biomasa algal, observándose que los precios máximos se corresponden con los piensos que mayor incorporación poseen. Estos piensos pueden ser competitivos con los piensos comerciales en el caso de SC25 o SC37. En cualquier caso, para que un pienso con biomasa de microalgas, por ejemplo el SC25, sea competitivo con el material derivado del pescado, el precio de la biomasa de microalgas (base seca) no debería de exceder de 19,5 €/kg.

Tabla V.- Evaluación económica hipotética derivada de la sustitución de la harina de pescado por biomasa de *S. almeriensis* en piensos comerciales para el preengorde de *S. aurata*.

	CT	SC25	SC37	SC50	SC75
Opción 1: gasto en <i>S. almeriensis</i> (€/t) ¹	-	903	1.358	1.806	2.709
Opción 2: gasto <i>S. almeriensis</i> (€/t) ¹	-	1.625,4	2.444,4	3.250,8	4.876,2
Ahorro en derivados del pescado (€/t) ²		90	136	181	273
Precio Opción 1 (€/kg) ³	0,59	1,31	1,67	2,03	2,75
Precio Opción 2 (€/kg) ³	0,59	2,03	2,76	3,48	4,92
Incremento precio Opción 1 (€/kg)	-	0,72	1,09	1,44	2,16
Incremento precio Opción 2 (€/kg)	-	1,44	2,17	2,89	4,33

¹Gasto 1: 7 €/kg de harina microalgal. Gasto 2: 12,6 €/kg harina microalgal. ²Los precios utilizados para las estimaciones realizadas son 1,09 €/kg para la harina de pescado (valor medio en 2011 para la harina de pescado chilena con 65% de proteína, según el Fondo Monetario Internacional, <http://www.imf.org>) y 1,06 €/kg para el aceite de pescado (valor medio de 2011 según la FAO, <http://dx.doi.org/10.1787/888932428253>). ³ Estimación del gasto en derivados de pescado y en microalgas por cada kg de pienso. No se incluyen en el estudio los gastos derivados de otros macronutrientes, aditivos, microelementos, maquinaria, etc.

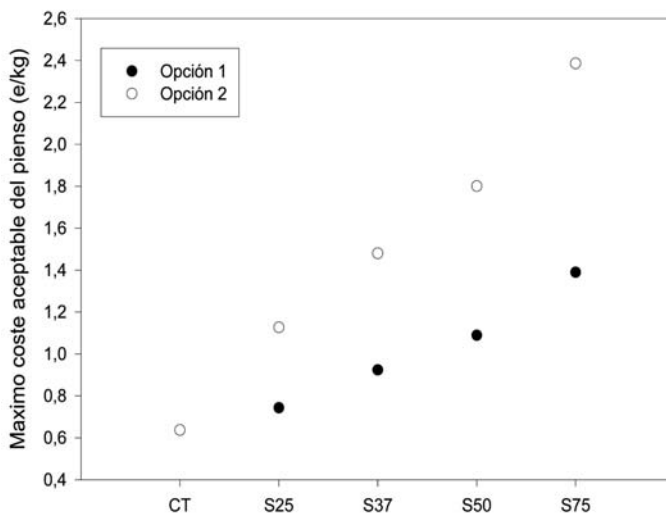


Figura 3.- Análisis de coste máximo aceptable para los piensos elaborados con *S. almeriensis* con ambas opciones de precio (•): 7 €/kg, y (o): 12,6 €/kg.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que el crecimiento de los juveniles de dorada no se ve afectado negativamente por la sustitución parcial de la harina de pescado por biomasa liofilizada de *Scenedesmus almeriensis*, observándose incluso una mejora significativa en el peso final de los animales alimentados con los piensos SC37. La sustitución parcial de la harina de pescado por biomasa algal ha sido realizada con éxito en diversas especies de peces como la carpa (Nandeeshya *et al.*, 2001), la tilapia (Isik *et al.*, 1999) y la trucha arcoiris (Dallaire *et al.*, 2007), además sin que ello ejerza un efecto negativo sobre el crecimiento de los animales. En el presente estudio también se pone de manifiesto que la inclusión de la harina algal no solo no ejerce un efecto negativo sobre el crecimiento de los peces sino que además, cuando el porcentaje de sustitución de la proteína de la harina de pescado es del 37,5% se incrementa el peso medio final de los peces, aunque solo con diferencias significativas respecto a los peces alimentados con SC25 y SC75.

La composición proximal corporal de los juveniles de *S. aurata* no presentó diferencias significativas entre los distintos tratamientos experimentales. El contenido lipídico y proteico en la canal de los juveniles de *S. aurata* es similar al descrito por varios autores para individuos de esta especie con un mismo peso (Robaina *et al.*, 1998). El hecho de que en el presente estudio no se modifique la composición proximal de los peces parece indicar que los piensos tienen una composición equilibrada, y que se produce un buen aprovechamiento del alimento con independencia de cuál sea la proporción de microalga utilizada para su preparación.

El perfil de ácidos grasos de los tejidos hepático y muscular reflejó el perfil de los distintos piensos experimentales. Este es un hecho ampliamente descrito en peces que la composición de ácidos grasos del alimento se refleja en la de sus propios tejidos (Benedito-Palos, 2010). Así, el mayor contenido de 18:2n-6 y 18:3n-3, y el menor de EPA y DHA, se encontró en los peces alimentados con los piensos que incluían mayor proporción de la microalga *S. almeriensis*. No obstante, en el músculo del pez la reducción de EPA fue algo más marcada que para DHA, aunque los valores prácticamente no se vieron modificados respecto al tratamiento control. Este hecho podría estar relacionado con la preferencia del uso metabólico del EPA sobre el DHA. Se ha descrito que en el músculo blanco la beta-oxidación mitocondrial se prioriza sobre la oxidación peroxisomal (Froyland *et al.*, 2000). De este modo, al metabolizarse preferentemente el EPA en las mitocondrias sobre el DHA en los peroxisomas (Madsen *et al.*, 1998) se produciría cierto incremento del segundo respecto al primero en el tejido muscular.

Los resultados del análisis histológico de los tejidos no evidencian la existencia de alteraciones estructurales en el hígado e intestino de las doradas alimentadas con piensos que incluye *S. almeriensis*. No se pudo establecer una relación entre el contenido en la microalga *S. almeriensis* en piensos para dorada y el tamaño de los hepatocitos presentes en el tejido hepático. Sin embargo, el análisis morfométrico de las imágenes puso de manifiesto que se produce un incremento significativo de la altura de las vellosidades en el intestino distal conforme se aumenta la inclusión de harina algal. Este hecho indica que existe un incremento de la superficie de absorción en los tramos posteriores del intestino en los peces alimentados con *S. almeriensis*. El incremento en la longitud de las vellosidades también se ha descrito en ejemplares de sargo (*Diplodus puntazzo*) alimentados con piensos en los que se sustituyó la harina de pescado por harina de girasol (Nogales *et al.*, 2010).

Desde una perspectiva hipotética se ha realizado un análisis de costes en el que se observa cómo se produce un incremento del precio del pienso conforme se aumenta el nivel de sustitución de la harina de pescado por harina de *S. almeriensis*. Esto es debido a que el coste de la biomasa de microalga liofilizada es superior al de la harina de pescado. A pesar de esto se podrían conseguir precios de producción competitivos con niveles de sustitución de hasta un 37%, cuando se tiene en cuenta el precio de algunos de los piensos que se comercializan para

peces de acuicultura marina. No obstante, podría ser interesante en futuros trabajos realizar una evaluación económica considerando a la harina de *S. almeriensis* como un subproducto y no como el producto principal de un proceso biotecnológico. En cualquier caso, y hasta que no se abaraten los costes de producción de estas microalgas, su utilización estaría limitada a las fases de cultivo larvario y/o de preengorde o para su uso en especies de alto valor económico.

Para concluir, los resultados obtenidos permiten establecer que el nivel óptimo de sustitución de la proteína de la harina de pescado por biomasa de *S. almeriensis* en piensos para juveniles de dorada es de un 37%. Por otra parte, no se han encontrado efectos negativos sobre los parámetros zootécnicos, ni en la composición proximal, ni en la estructura tisular del hígado e intestino de los juveniles de *S. aurata* cuando se emplean niveles de sustitución de hasta un 75%. Se ha observado que la inclusión de *S. almeriensis* en los piensos incrementa el nivel de ácidos grasos de la serie n-3, especialmente de linolénico, en el tejido muscular de los peces.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por el Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía AGR5334 y los fondos FEDER. Parte del desarrollo experimental se ha realizado en las instalaciones del Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA₃) de la Universidad de Almería. Especial agradecimiento a la Fundación Cajamar.

BIBLIOGRAFÍA

- Ación F.G., Fernández J.M., Magán J.J., Molina E. 2012. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnology Advances* 30(6): 1344-53.
- Belarbi H., Molina E., Chisti Y. 2000. A process for high and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Enzyme and Microbial Technology* 26: 516-29
- Benedito-Palos, L. 2010. Sustitución de aceites de pescado en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*) ricas en proteínas vegetales. Efectos sobre el crecimiento y los perfiles de ácidos grasos. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. 214 pp.

- Dallaire, V., Lessard, P., Vandenberg, G., de la Noüe J. 2007 Effect of algal incorporation on growth, survival and carcass composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Bioresource Technology* 98: 1433–1439.
- Froyland, L., Madsen, L., Vaagenes, H., Totland, G., Auwerx, J., Kryvív, H., Staels, B., Berge, R. 1997. Mitochondrion is the principal target for nutritional and pharmacological control of triglyceride metabolism. *The Journal of Lipid Research* 38: 1851-1858.
- González, C.V., Cerón, M.C., Acién, F.G., Segovia, C., Chisti, Y., Fernández J.M. 2010. Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. *Bioresource Technology* 101: 7587-7591.
- Isik, O., Sarihan, E., Kusvuran, E., Gül, Ö., Erbatur, O. 1999. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. *Aquaculture* 174: 299-311.
- Madsen, L., Froyland, L., Dyroy, E., Helland, K., Berge, R.K. 1998. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids are differently metabolized in rat liver during mitochondria and peroxisome proliferation. *Journal of Lipid Research* 39: 583-593.
- Nandeesh, M.C., Gangadhara, B., Manissery, J. K., Venkataraman, L.V. 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. *Bioresource Technology* 80(2): 117-120.
- Nogales, S., Tomás-Vidal, A., Martínez-Llorens, S., Jover-Cerdá, M. 2010. Sunflower meal as a partial substitute in juvenile sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo*) diets: Amino acid retention, gut and liver histology. *Aquaculture* 298: 275-281.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal Of Bioscience And Bioengineering* 101(2): 87–96.
- Robaina, L., Izquierdo, M.S., Moyano, F.J., Socorro, J Vergara, J.M., Montero D. 1998. Increase of the dietary $n-3/n-6$ fatty acid ratio and addition of phosphorus improves liver histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture* 161: 281-293.
- Rodríguez-Ruiz J., Belarbi E.H., García J.L., López D. 1998. Rapid simultaneous lipid extraction and transesterification for fatty acid analyses. *Biotechnological Techniques* 12:689-91.

SESIÓN DE ACUICULTURA

D. Luis Vargas-Chacoff. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Dña. María Dolores Suárez. Universidad de Almería, España.

Dña. Rosa Vázquez. Universidad de Cádiz, Puerto Real, España.

Efecto de múltiples ciclos de congelación-descongelación sobre la calidad del filete de corvina *Argyrosomus regius*

Suárez¹ M.D., Sáez¹ M.I., Martínez-Prados¹ A., Molina¹ B., Martínez¹ T., Saavedra² M., Cárdenas² S.

¹Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería. España.

²Departamento de Producción. Centro IFAPA *El Toruño*. El Puerto de Santa María. Cádiz. dsuarez@ual.es.

RESUMEN

Las características organolépticas de la corvina ponen de manifiesto que se trata de un producto de excelente calidad, con alto porcentaje de músculo, baja adiposidad y un contenido lipídico saludable que, unido a su excelente calidad sensorial, incrementan sus posibilidades de venta como producto transformado en forma de filetes.

La congelación durante un tiempo prolongado puede producir cambios indeseables en la estructura del músculo debido a que se forman cristales de hielo en el interior de las células musculares. Estas alteraciones se ven agravadas por las fluctuaciones de temperatura que se pueden producir durante el almacenamiento en congelación, susceptibles de provocar la recristalización del agua o de aumentar la desnaturalización de las proteínas musculares.

A fin de evaluar la posible influencia de los procesos de congelación y descongelación sobre el filete de corvina se ha estudiado la evolución *post-mortem* de diversos parámetros texturales y estructurales en filetes de corvina conservados de tres formas diferentes: refrigeración a 4°C, congelación a -20°C y bajo ciclos sucesivos de congelación-descongelación.

Corvinas cultivadas (400-500 g) recién sacrificadas se evisceraron y filetearon de forma mecánica y se envasaron en bandejas de polipropileno. Los filetes se mantuvieron en tres condiciones de conservación: 1) refrigeración durante 15 días (4°C en cámara fría); 2) congelación durante un periodo de 5 meses (-20°C en congelador), y 3) congelación durante un periodo de 5 meses con alteración de la cadena de frío.

Después de la descongelación los filetes se mantuvieron durante 15 días en refrigeración durante los cuales se realizaron análisis del perfil de textura (TPA), color, pH y capacidad de retención de agua.

Los resultados muestran que la congelación produce alteraciones en las proteínas musculares y disminuye su consistencia y su capacidad para retener agua, causando modificaciones en las características texturales y de luminosidad de los filetes. Estas alteraciones son significativamente más intensas cuando se interrumpe la congelación con ciclos sucesivos de descongelación.

RESUMEN

Congelación, ciclos de congelación-descongelación, corvina, filetes, refrigeración.

INTRODUCCIÓN

El aumento en la producción de las especies tradicionales de acuicultura ha provocado una bajada de los precios por exceso de oferta, agravado por la competencia de productos procedentes del exterior. El margen de beneficios es muy pequeño y solamente es rentable para grandes explotaciones. La mayor exigencia del mercado hace que las tendencias actuales deban de ir encaminadas a ofrecer un producto en el que prime la calidad, ya que esta es uno de los mejores distintivos, le añade valor y facilita su comercialización. Bajo esta perspectiva, es cada vez más necesario que el consumidor disponga de un producto presentado en formato adecuado a los hábitos de consumo, correctamente conservado y de fácil y rápida preparación, y asimismo, deberá estar informado adecuadamente de la procedencia mediante etiquetas y certificaciones.

La corvina es una fuerte apuesta en cuanto a la diversificación de especies en acuicultura del Mediterráneo, es la cuarta especie en importancia de la acuicultura marina de peces en España con una producción de 3.250 t en 2010 (APROMAR, 2011). El principal freno para su expansión es la comercialización, ya que no es una especie conocida de forma generalizada en los mercados. Sus características organolépticas ponen de manifiesto que la corvina de piscifactoría desarrolla unas cantidades inusualmente bajas de grasa mesentérica y muscular en comparación con otras especies, y que admite un periodo de conservación largo, en condiciones de refrigeración, sin verse afectadas sus características (Hernández *et al.*, 2009). Se trata, por lo tanto, de un producto excelente, con alto porcentaje de músculo, baja adiposidad y un contenido lipídico saludable que, unido a su calidad sensorial (carne blanca, con un agradable olor, aroma y textura), incrementan sus posibilidades de venta en forma de filetes.

La congelación es uno de los procedimientos más comunes que se aplican hoy en día para preservar la calidad y aumentar la vida útil de los productos de la pesca y otros alimentos (Careche *et al.*, 1999). Su objetivo principal es detener el crecimiento microbiano y la disminución de la actividad enzimática y, por lo tanto, prevenir o retrasar el deterioro de alimentos. Algunos autores (Cappeln *et al.*, 1999; Nielsen y Jessen, 2007) han comprobado que, cuando se realiza bajo condiciones óptimas, no se distinguen de los peces frescos en cuanto al color, el sabor y la textura. Sin embargo, si las condiciones no son las adecuadas, la calidad de los productos se puede ver negativamente influenciada, debido a alteraciones de las propiedades funcionales de las proteínas, que provocan cambios en las características texturales y reducen la capacidad de retención de agua y la jugosidad de la carne. El resultado es un producto duro, seco y fibroso y, por lo tanto, de menor valor comercial (Barroso *et al.*, 1998).

La congelación durante un tiempo prolongado puede producir cambios indeseables en la estructura del músculo (Refsgaard *et al.*, 199) que pueden provocar la agregación y la desnaturalización de las proteínas, principalmente de las miofibrilares, que causan una disminución de la solubilidad de la proteína durante el almacenamiento congelado (Saeed y Howell, 2004). Durante la congelación se forman cristales de hielo en el interior de las células musculares, disminuye la capacidad de retención de agua y aumenta la fuga de líquido de las células al espacio intercelular (Bello *et al.*, 1981; Ayala *et al.*, 2005). Estas alteraciones se ven agravadas por las posibles fluctuaciones de temperatura que se producen durante el almacenamiento en congelación, que pueden provocar la recristalización del agua o aumentar la desnaturalización de las proteínas musculares.

El objetivo del presente trabajo es el estudio de la conservación de filetes de corvina bajo tres formas de conservación: en refrigeración a 4°C, en congelación a -20°C y bajo ciclos sucesivos de congelación-descongelación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han utilizado corvinas con un peso medio de 450 g cultivadas en las instalaciones del Centro IFAPA *El Toruño*, en El Puerto de Sta. María (Cádiz). Las corvinas recién sacrificadas se trasladaron a la planta de transformados de productos de acuicultura “Esteros de Canela” (Ayamonte, Huelva) donde se evisceraron y filetearon de forma mecánica y se envasaron en bandejas de polipropileno. Una vez envasadas se trasladaron al Laboratorio de Producción Animal de la Universidad de Almería.

En el laboratorio, los filetes de corvina mantuvieron en tres condiciones de conservación (24 filetes por tratamiento): **R**: conservada 15 días en refrigeración (4°C en cámara fría); **C**: conservada en congelación (-20°C en congelador) durante un periodo de 5 meses (pasado este periodo se descongelaron y mantuvieron durante 15 días en refrigeración); **C-D**: conservada en congelación (-20°C en congelador) durante un periodo de 5 meses con alteración de la cadena de frío (manteniéndola a temperatura ambiente durante periodos de 24 horas cada 3 semanas), tras lo que se han descongelaron y mantuvieron durante 15 días en refrigeración.

Durante los 15 días de almacenamiento se tomaron 4 filetes de cada tratamiento los días 2, 5, 8, 12, 14 y 16. En cada uno de los intervalos considerados se realizaron las siguientes determinaciones: análisis del perfil de textura (TPA), pH, capacidad de retención de agua (CRA) y medida del color de la piel y el filete.

Los datos fueron analizados mediante un ANOVA de una vía, seguido de una comparación de medias (test de Tukey). Salvo indicación en contra, se ha considerado un nivel de significación del 95% para determinar diferencias estadísticas ($p < 0,05$). Los resultados expresados como porcentaje fueron normalizados previamente, utilizando la transformación del arco de seno de su raíz cuadrada, de acuerdo con Sokal y Rohlf (1981). Toda la estadística se realizó utilizando un programa informático específico (Statgraphics Plus 4.0, Statistical Graphics Corp., Rockville, Maryland, USA).

RESULTADOS

Los valores de pH y CRA del músculo de las corvinas (Fig. 1) mostraron pocos cambios a lo largo de los 16 días en que se conservaron bajo las diferentes condiciones. Para ambos parámetros las corvinas sometidas a refrigeración mostraron mayores valores que las

congeladas, aunque para el pH estas diferencias no fueron significativas. La CRA de los filetes sometidos a congelación continua fue superior a los que se sometieron a ciclos de descongelación durante los 8 primeros días de almacenamiento, a partir de los cuales disminuyeron hasta hacerse similares.

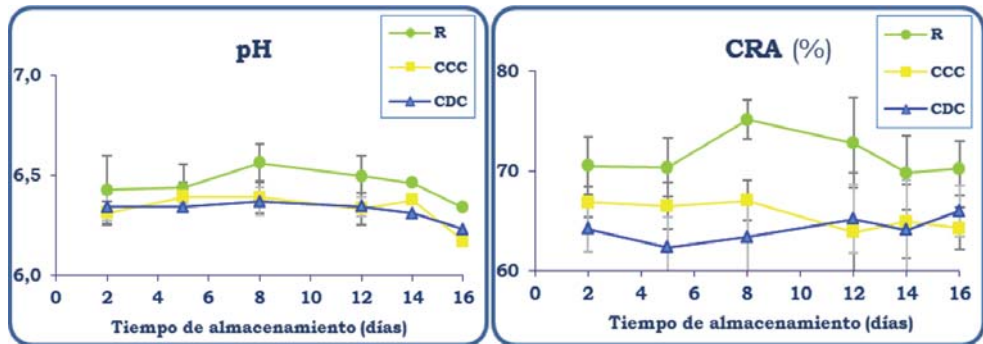


Figura 1.- Evolución del pH y la CRA de los filetes de corvina mantenidos en diferentes condiciones de almacenamiento (n=4).

La tabla I muestra los valores obtenidos en el análisis de perfil de textura (TPA) determinado en los filetes sometidos a los tres tipos de conservación. Los valores iniciales de firmeza, gomosidad y masticabilidad fueron superiores en los refrigerados que en los congelados y estos superiores a los sometidos a ciclos de descongelación. A lo largo del almacenamiento en refrigeración disminuyeron los valores de los filetes refrigerados hasta hacerse similares a los demás. El sistema de conservación no afectó a la elasticidad y resistencia, sin embargo, la cohesividad aumentó cuando los filetes fueron sometidos a repetidos ciclos de congelación descongelación (C-D).

Tabla I.- Valores medios (\pm SD) de los parámetros del análisis de perfil de textura (TPA) de los filetes de corvina mantenidos en diferentes condiciones de almacenamiento (n=4).

		Tiempo de almacenamiento (días)					
		2	5	8	12	14	16
Firmeza (N)	R	30,2 \pm 4,2	19,9 \pm 4,3	20,2 \pm 5,5	15,3 \pm 2,9	13,9 \pm 2,6	12,9 \pm 2,41
	C	18,8 \pm 3,7	15,7 \pm 3,8	13,5 \pm 2,4	12,3 \pm 3,3	12,1 \pm 2,7	11,8 \pm 1,3
	C-D	11,5 \pm 0,9	11,5 \pm 2,9	10,2 \pm 3,9	10,6 \pm 2,7	11,2 \pm 1,2	10,7 \pm 0,9
Elasticidad (mm)	R	0,7 \pm 0,05	0,7 \pm 0,04	0,8 \pm 0,06	0,8 \pm 0,13	0,7 \pm 0,05	0,7 \pm 0,04
	C	0,7 \pm 0,06	0,7 \pm 0,07	0,7 \pm 0,04	0,7 \pm 0,09	0,7 \pm 0,05	0,8 \pm 0,04
	C-D	0,7 \pm 0,03	0,7 \pm 0,05	0,7 \pm 0,04	0,7 \pm 0,04	0,7 \pm 0,06	0,7 \pm 0,08
Cohesividad	R	0,5 \pm 0,05	0,5 \pm 0,04	0,6 \pm 0,04	0,6 \pm 0,02	0,5 \pm 0,04	0,5 \pm 0,05
	C	0,5 \pm 0,05	0,5 \pm 0,04	0,6 \pm 0,03	0,6 \pm 0,05	0,6 \pm 0,04	0,6 \pm 0,05
	C-D	0,6 \pm 0,04	0,6 \pm 0,04	0,6 \pm 0,03	0,6 \pm 0,02	0,5 \pm 0,03	0,5 \pm 0,04
Gomosidad (N/mm ²)	R	16,1 \pm 2,2	10,5 \pm 2,6	11,3 \pm 2,7	9,1 \pm 1,6	7,5 \pm 1,7	6,9 \pm 1,1
	C	10,1 \pm 1,8	8,6 \pm 1,9	7,6 \pm 1,5	7,4 \pm 2,0	6,8 \pm 1,7	6,5 \pm 0,7
	C-D	6,9 \pm 0,9	6,8 \pm 1,7	6,3 \pm 2,3	6,7 \pm 1,6	6,6 \pm 1,0	6,2 \pm 0,7
Masticabilidad (Nmm)	R	10,6 \pm 1,9	7,2 \pm 1,9	9,5 \pm 2,9	7,7 \pm 2,3	5,5 \pm 1,1	4,8 \pm 0,9
	C	7,3 \pm 1,3	6,2 \pm 1,4	5,4 \pm 1,3	5,4 \pm 1,9	4,9 \pm 1,4	5,0 \pm 0,7
	C-D	4,9 \pm 1,7	4,6 \pm 1,2	4,6 \pm 1,7	4,9 \pm 1,3	4,7 \pm 0,5	4,1 \pm 0,6
Resistencia (N/mm)	R	0,29 \pm 0,03	0,27 \pm 0,02	0,28 \pm 0,03	0,31 \pm 0,02	0,24 \pm 0,02	0,24 \pm 0,04
	C	0,29 \pm 0,03	0,27 \pm 0,03	0,32 \pm 0,03	0,30 \pm 0,04	0,31 \pm 0,03	0,28 \pm 0,05
	C-D	0,26 \pm 0,02	0,26 \pm 0,02	0,27 \pm 0,03	0,26 \pm 0,02	0,26 \pm 0,03	0,25 \pm 0,02

También los parámetros de color L*, b* y Hue* fueron superiores en los filetes C-D, seguidos de C siendo inferiores los valores mostrados por los R. Considerando el color de la piel, no se observó influencia del sistema de refrigeración sobre L*, mientras que a* y b* fueron inferiores en los peces controles (R) y mostraron valores muy similares para los congelados y descongelados.

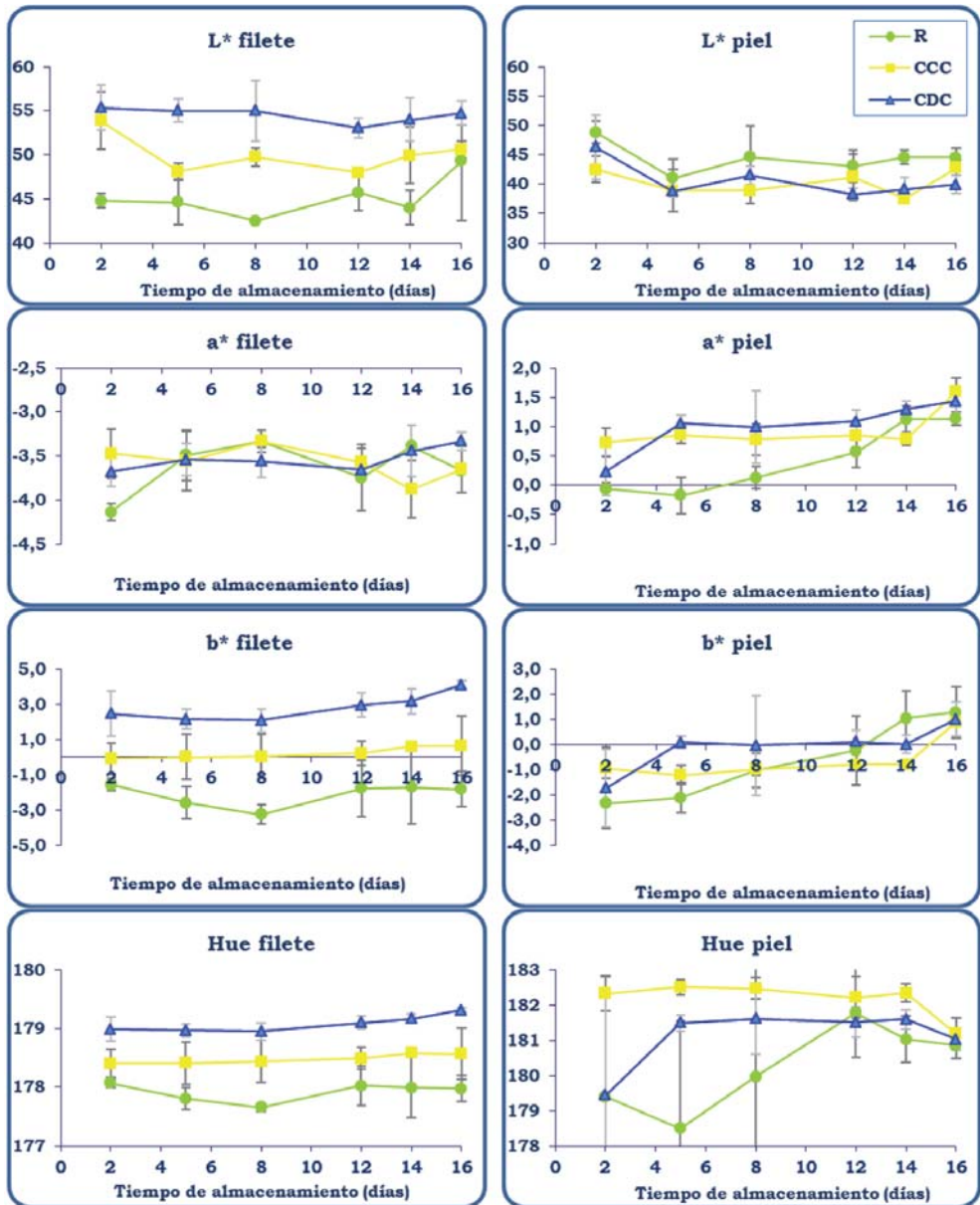


Figura 2.- Evolución de los parámetros de color del filete y la piel de los filetes de corvina mantenidos en diferentes condiciones de almacenamiento (n=4).

DISCUSIÓN

La textura es uno de los factores más importantes a tener en cuenta a la hora de valorar la calidad de un alimento, y para evaluar este atributo y sus cambios durante el almacenamiento *post-mortem* se han estudiado los parámetros asociados al análisis de perfil de textura (TPA) y la capacidad de retención de agua (CRA). El análisis de perfil de textura (TPA) permite la medición de varios parámetros de textura simultáneamente mediante la aplicación de dos ciclos consecutivos de compresión con una sonda cilíndrica plana imitando la acción de la masticación humana.

Los parámetros de firmeza, gomosidad y masticabilidad se afectaron negativamente por la congelación, y de forma más intensa por los ciclos de congelación-descongelación (C-D), los valores de estos parámetros disminuyeron de forma significativa durante el almacenamiento en las corvinas controles, de forma que se igualaron a los de las congeladas y descongeladas. Diversos autores han puesto de manifiesto que los ciclos de C-D afectan negativamente a las características texturales del músculo de los peces (Yoon y Lee 1990; Yoon *et al.* 1991; Nilsson y Ekstrand 1995a; Srinivasan *et al.* (1997), Chevalier *et al.* (2000), Sultanbawa y Li-Chan 2001). También Jain *et al.* (2007) observaron en Rohu fish (*Labeo rohita*) una disminución de los valores de firmeza y resistencia cuando se conservó durante 8 días a congelación.

Las propiedades de retención de agua en el músculo son de una gran importancia para el valor comercial y la aceptación del consumidor, y dependen de la organización espacial que tengan las proteínas miofibrilares. Los valores obtenidos en los filetes refrigerados son relativamente altos (por encima del 70%), también cuando se comparan con los obtenidos en dorada, dentón y lubina. La evolución *post-mortem* mostró un ligero aumento de este parámetro durante los primeros 8 días *post-mortem* (dpm) que después disminuyó hasta valores similares a los iniciales. La congelación de los filetes provocó una disminución significativa de este parámetro, de forma similar a lo observado por otros autores, que lo explican como consecuencia de la desnaturalización y agregación de las proteínas miofibrilares durante el proceso de congelación (Sikorski *et al.*, 1976; Shenouda, 1980; Barroso *et al.*, 1998).

Los valores obtenidos en los filetes sometidos a ciclos de C-D fueron aún más bajos que los congelados durante los primeros 8 dpm, a partir de los cuales se observó una mayor disminución de estos hasta igualarse en las últimas etapas. También Benjakul y Bauer (2000, 2001) mostraron que los ciclos C-D provocaban un aumento de la exudación y disminución de la capacidad de retención de agua en bacalao y el pez gato (*Silurus glanis*) respectivamente.

También esto ha sido observado por Orak y Kayisoglu (2008), confirmando que los procesos se agudizaban cuando el pescado se somete a ciclos de C-D.

La pigmentación de la piel en las especies acuícolas puede ser considerada como un importante factor económico ya que repercute en el valor de venta del pescado al ser un claro indicador de calidad para el consumidor. El parámetro L^* indica la cantidad de luz que se refleja o transmite, pudiéndose distinguir entre color claro u oscuro ($L^* = 0$ para el negro y $L^* = 100$ para el blanco), el valor de este parámetro en la piel no se vio influido de forma significativa por la congelación. La evolución *post-mortem* mostró una disminución de los valores en los primeros cuatro días de almacenamiento en todos los tratamientos, indicando un oscurecimiento de la piel durante la conservación. La luminosidad de los filetes si se vio significativamente afectada por los procesos de congelación y los ciclos de C-D, siendo los más elevados los valores de los filetes sometidos a C-D, seguidos de los congelados, de forma similar a lo observado por otros autores.

El parámetro a^* representa la dimensión rojo/verde, los valores de la piel fueron próximos a cero durante los primeras etapas del almacenamiento; en los filetes refrigerados se mantuvieron estables hasta los 8 dpm en que aumentaron de forma progresiva; este aumento se adelantó a los 2 dpm en los congelados y los 5 dpm en los C-D. Los valores de este parámetro en el filete fueron negativos, indicando una coloración verdosa que no se ha afectado de forma significativa por la congelación y los ciclos C-D, además, sufrió pocas modificaciones durante el almacenamiento. Por su parte el valor b^* , que representa la dimensión amarillo/azul, con valores positivos para el amarillo y negativos para el azul, mostró valores similares al comienzo del periodo de almacenamiento para la piel y el músculo en las corvinas refrigeradas, sufrió una tendencia diferente, aumentando hasta valores positivos en la piel (volviéndose amarilla a partir de los 12 días de almacenamiento) y disminuyendo durante los primeros días en el filete para volver a aumentar a partir de los 8 dpm, manteniéndose siempre en valores negativos (azul). Aunque las condiciones de almacenamiento no influyeron de forma significativa sobre este parámetro en la piel, si se pudieron observar valores superiores a los controles en los filetes congelados y aún más altos en los sometidos a ciclos de descongelación.

Los resultados coinciden con los de un estudio realizado en doradas y lubinas enteras en que los valores de luminosidad oscilaron entre 56 y 49, y entre 60 y 54, respectivamente, y durante el almacenamiento el pescado se volvió más oscuro (disminuyó L) y más amarillo (aumentó b^*) (Cakli *et al.*, 2006a). Por el contrario, otros estudios han mostrado aumento del valor de L^* y disminución de los componentes rojo y amarillo con el almacenamiento (Pavlidis *et al.*, 2006). En dorada y lubina se ha observado disminución de L^* y decoloración a los 21 días de almacenamiento (Cakli *et al.*, 2006b; Álvarez *et al.*, 2008).

Es difícil la interpretación de estos resultados dada la gran variabilidad existente en la coloración de la piel de los peces. Sin embargo, sí es posible valorar la importancia de la posibilidad de cuantificar estos cambios y, cuando se perfeccione la técnica de medida y de interpretación, poder usarlos para valorar el bienestar y la calidad de los peces de cultivo.

Los cambios *post-mortem* pueden estar asociados a las alteraciones en la reflexión de la luz debido a la autólisis celular, la desnaturalización de las proteínas musculares (producida por la disminución en la retención de agua por la carne). Si esto se comprueba, podrían servir de método para cuantificar los daños celulares durante el almacenamiento, y por lo tanto contribuir de forma significativa al estudio de los procesos degenerativos en la carne de los peces después del sacrificio.

CONCLUSIONES

La congelación produce alteraciones en las proteínas musculares y disminuye su consistencia y capacidad para retener agua causando alteraciones en las características texturales y de luminosidad de los filetes. Estas alteraciones son significativamente más intensas cuando se interrumpe la congelación con ciclos sucesivos de descongelación.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez A., García-García B., Garrido M.D., Hernández M.D. 2008. The influence of starvation time prior to slaughter on the quality of commercial-sized gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage. *Aquaculture* 284: 106-114.
- APROMAR 2011. *La Acuicultura Marina de Peces en España 2011*. Edición especial 25 Aniversario APROMAR. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino y Fondo Europeo de la Pesca. Disponible en la web: <http://www.apromar.es/Informes/informe%202011/Informe-APROMAR-2011.pdf>
- Ayala M.D., Abdel I., Santaella M., Martínez C., Periago M. J., Gil F., Blanco A., López-Albors, O. 2010. Muscle tissue structural changes and texture development in sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem storage. *Food Science and Technology* 43: 465-475.
- Barroso M., Careche M., Borderias A.J. 1998. Quality control of frozen fish using rheological

techniques. *Trends Food Sci. Technol.* 9: 223-229.

- Bello R.A., Luft J.H., Pigott G.M. 1981. Improved histological procedures for microscopic demonstration of related changes in fish muscle tissue structure during holding and freezing. *Journal of Food Science* 46: 733-740.
- Benjakul S., Bauer F. 2000. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1143-1150.
- Benjakul S., Bauer F. 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis Linne*) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. *Food Chem.* 72: 207-217.
- Cakli S., Kilinc B., Cadun A., Tolasa S. 2006a. Effects of using slurry ice on the microbiological, chemical and sensory assessments of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored at 4 °C. *Eur. Food Res. Technol.* 222: 130-138.
- Cakli S., Kilinc B., Cadun A., Dincer T., Tolasa S. 2006b. Effect of uncutting on microbiological, chemical and sensory properties of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Eur. Food Res. Technol.* 222: 719-726.
- Cappeln G., Nielsen J., Jessen F. 1999. Synthesis and degradation of adenosine triphosphate in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperatures. *J. Sci. Food Agric.* 79:109.
- Careche M., Herrero A.M., Rodríguez-Casado A., Del Mazo M.L., Carmona P. 1999. Structural changes of hake (*Merluccius merluccius* L.) fillets: effects of freezing and frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* 47: 952-959.
- Chevalier D., Le Bail A., Ghoul M. 2000. Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: Part I. Freezing at atmosphere pressure. *J Food Eng.* 46: 277-285.
- Hernández M.D., López M.B., Álvarez A., Ferrandini E., García-García B, Garrido M.D. 2008. Sensory, physical, chemical, and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chem.* 114: 237-345.
- Jain D., Pathare P.B., Manikantan M.R. 2007. Evaluation of texture parameters of Rohu fish (*Labeo rohita*) during iced storage. *J. Food Eng.* 81: 336-340.
- Nielsen J., Jessen F. 2007. *Quality of Frozen Fish*. En: Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Nollet, L. M. L. (Ed.) Blackwell Publishing, Iowa. pp. 577-586.
- Nilsson K., Ekstrand B. 1995. Frozen storage and thawing methods affect biochemical and sensory attributes of rainbow trout. *J. Food Sci.* 60: 627-630.
- Orak H.H., Kayisoglu S. 2008. Quality changes in whole, gutted and filleted three fish species (*Gadus euxinus*, *Mugil cephalus*, *Engraulis encrasicolus*) at frozen storage period (-26 degrees C). *Acta Scientiarum Polonorum - Technologia Alimentaria*, 7:15-28.
- Pavlidis M., Papandroulakis N., Divanach P., 2006. A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: preliminary results for coloration pattern of

- red skin Sparidae. *Aquaculture* 258: 211-219.
- Refsgaard H.H.F., Brockho P.B., Jensen B. 1999. Sensory and chemical changes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 3473-3479.
- Saeed S., Howell N.K. 2004. Rheological and differential scanning calorimetry studies on structural and textural changes in frozen Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *J. Sci. Food Agric.* 84:1216-1222.
- Shenouda S.Y.K. 1980. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Adv. Food Res.* 26: 275-311.
- Sikorski Z., Olley J., Kostuch S. 1976. Protein changes in frozen fish. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 8: 97-129.
- Srinivasan S., Suzanne Y.L., Blanchard P., Tidwell J.H. 1997. Physicochemical changes in prawns (*Machrobrachium rosenbergii*) subjected to multiple freeze-thaw cycles. *J. Food Sci.* 62: 124-127.
- Sultanbawa Y., Li-Chan, E.C.Y. 2001. Structural changes in natural actomyosin and surimi from ling cod (*Ophiodon elongates*) during frozen storage in the absence or presence of cryoprotectants. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4716-4725.
- Yoon K.S., Lee C.M. 1990. Effect of powdered cellulose on the texture and freeze-thaw stability of surimi-based shellfish analog products. *J. Food Sci.* 55: 87-91.
- Yoon K.S., Lee C.M., Hufnager, L.A. 1991. Textural and microstructural properties of frozen fish mince as affected by the addition of non fish proteins and sorbitol. *Food Struct.* 10: 255-265.

PANELES

Actividad digestiva de la corvina cultivada (*Argyrosomus regius*, Asso 1801)

García-Mesa¹ S., Sáez² M.I., García-Gallego¹ M., Martínez² T., Cárdenas³ S., Suárez² M.D.

¹Departamento de Zoología. Universidad de Granada. Granada. España.

²Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería. España.

³Departamento de Producción, Centro IFAPA El Toruño. Puerto de Santa María, Cádiz.
sgarciam@ugr.es

RESUMEN

Se ha determinado la distribución de las principales actividades enzimáticas digestivas en el tubo digestivo de la corvina. Se han utilizado 14 ejemplares de juveniles de corvina criados en las instalaciones del Centro del IFAPA *El Toruño* (Puerto de Santa María, Cádiz) y alimentados con un pienso comercial (47 % de proteína y 20 % de grasa). Tras el sacrificio de los animales, se les extrajo el tubo digestivo que se dividió en los siguientes tramos: estómago (E), ciegos pilóricos (CP), intestino proximal (IP) e intestino distal (ID); en cada uno de ellos se determinaron las actividades proteasa ácida y alcalina, tripsina, quimotripsina, amilasa y lipasa.

Los resultados muestran que la corvina posee una actividad enzimática digestiva similar a la de otros peces carnívoros, con una relativamente alta actividad proteasa. La actividad pepsina, una de las principales responsables de la digestión proteica en los peces, aunque inferior a la de peces alimentados con presas vivas, mostró valores similares a los peces cultivados en condiciones similares a las de nuestro experimento.

Las actividades tripsina y quimotripsina presentaron su valor máximo en los ciegos

pilóricos, con una alta relación entre ellas ($T/QT = 8,06$) que, de nuevo, pone de manifiesto el carácter carnívoro de la especie.

Se han observado bajos niveles de actividad lipasa coincidiendo con resultados obtenidos en otras especies de peces con bajo contenido en lípidos musculares. El mal aprovechamiento de los lípidos de la dieta es, posiblemente, la causa de su bajo contenido en lípidos. En este sentido, la corvina se caracteriza por su carne magra y por sus bajas necesidades de lípidos dietarios.

Por su parte, la actividad amilasa ha mostrado valores superiores a los observados en otras especies de peces carnívoros, ligeramente superiores a la dorada, trucha y anguila y muy inferiores a los observados en especies herbívoras, lo que sugiere que esta especie, a pesar de su carácter carnívoro, tiene una relativamente buena capacidad para digerir los componentes hidrocarbonados de la dieta.

PALABRAS CLAVE

Corvina, enzimas digestivas, proteasas.

INTRODUCCIÓN

La capacidad de los peces para utilizar el alimento es, en buena parte, el resultado de la actividad de los enzimas digestivos que influye decisivamente sobre su tasa de crecimiento. Gran cantidad de investigaciones han evaluado esta capacidad de los animales para digerir los principales nutrientes del alimento, caracterizando la actividad de los enzimas digestivos (proteasas totales, tripsina, quimotripsina, amilasa y lipasa) (Guzman *et al.*, 2001), así como los numerosos factores que influyen dicha actividad (por ejemplo, especie, edad, hábitat, temperatura y la composición del alimento; Hidalgo *et al.*, 1999).

En peces carnívoros se ha determinado que la tripsina y la quimotripsina son enzimas claves encontrándose una relación directa entre la actividad de las mismas y el crecimiento de los peces. En particular, la actividad tripsina es un potencial factor limitante de la tasa de crecimiento y de la utilización de los nutrientes de la dieta por los peces (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006). En trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón atlántico (*Salmo*

salar) se observó una relación lineal entre la actividad de la tripsina y la digestibilidad de la proteína (Krogdahl *et al.*, 1994; Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006). La tripsina es un enzima que activa a otras proteasas pancreáticas, como la quimotripsina, en mamíferos y peces (Sunde *et al.*, 2001). Su actividad aumenta en condiciones de rápido crecimiento, mientras que la quimotripsina juega un papel más importante cuando el crecimiento del pez está deprimido (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006).

A pesar de la importancia de los enzimas proteolíticos, no hay que descartar el papel de otras enzimas digestivas como lipasas y amilasas que, aunque han recibido una menor atención por los investigadores por no estar tan directamente relacionados con el aprovechamiento de la proteína, fracción más importante de la dieta, no deben ser infravaloradas, máxime cuando va siendo habitual incorporar a los piensos niveles crecientes de grasas y carbohidratos. La posibilidad de aumentar el contenido de estos últimos nutrientes como fuente de energía puede suponer un ahorro de proteína en piensos para peces, y desde este punto de vista, aumenta el interés por el conocimiento de estas actividades enzimáticas en diferentes especies.

El presente trabajo pretende la caracterización preliminar de la capacidad digestiva de la corvina, con objeto de contribuir a sentar las bases para el desarrollo de fórmulas alimenticias específicas para su cultivo. En este sentido, se ha determinado la distribución de las actividades proteasa total, tripsina, quimotripsina, amilasa y lipasa en el tubo digestivo de esta especie y el efecto del pH sobre la actividad proteasa total.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han utilizado juveniles de corvina de 194 ± 5 g de peso medio cultivadas en las instalaciones del Centro del IFAPA de El Toruño, en el Puerto de Santa María (Cádiz). Los ejemplares se mantuvieron con un suministro de agua filtrada y aireada de 5-10 L/min con una temperatura de $22,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Los peces se alimentaron diariamente mediante comedero automático con una ración semanal similar basada en el 1% diario del peso corporal. Se utilizó un pienso comercial (SKRETTING, C.V. 6), con un 47% de proteína bruta y un 20 % de grasa bruta.

Los animales utilizados (un total de 14 ejemplares) se sacrificaron, según la Directiva 2010/63/EU (sobredosis de metacaína), tras un ayuno de 24 h para eliminar el contenido del tubo digestivo. Tras ser pesados, se diseccionaron para la determinación de las relaciones

hepatomática (RHS) y digestosomático (RDS), a continuación se extrajo el tubo digestivo y se dividió en los siguientes tramos: estómago (E), ciegos pilóricos (CP), intestino proximal (IP) e intestino distal (ID), en cada uno de ellos se determinaron las actividades proteasa ácida y alcalina, tripsina, quimotripsina, amilasa y lipasa.

Cada fracción digestiva se homogenizó con agua fría ultrapura en proporción 1:4 (p:v); los homogeneizados se centrifugaron (16000 rpm, 30 min, 4°C) y el sobrenadante obtenido se separó y congeló a -80°C hasta el posterior análisis de las actividades enzimáticas. El contenido en proteína soluble de los sobrenadantes se determinó por el método de Bradford (1976), usando seroalbúmina bovina como estándar.

La actividad proteasa ácida se determinó utilizando hemoglobina al 0,5 % como sustrato, según Anson (1938). La actividad proteasa alcalina se evaluó usando el método descrito por Walter (1984), usando caseína al 1% como sustrato. El análisis de la actividad tripsina se realizó según el procedimiento descrito por Erlanger *et al.* (1961) con algunas modificaciones de Faulk *et al.* (2007). La actividad quimotripsina se determinó según el método descrito por Hummel (1959) modificado por Applebaum y Holt (2003). Para la determinación de la actividad α -amilasa se utilizó un *kit* comercial de diagnóstico (Labkit, 30140) basado en el método enzimático-cinético CNPG3 (Ying y Bais, 1998). La actividad lipasa se determinó según el método desarrollado por Gjellesvik *et al.* (1992) con las modificaciones propuestas por Lazo *et al.*, (2000).

El efecto de cada tratamiento sobre los valores individuales se evaluó mediante el análisis de la varianza ANOVA de una vía seguido de comparación de las medias mediante el procedimiento de Tukey (LSD).

RESULTADOS

Los valores medios de los parámetros biométricos de las corvinas utilizadas para el ensayo fueron: peso total: 194,75 \pm 5,10 g; peso de hígado: 2,28 \pm 0,47 g; peso de digestivo: 5,05 \pm 0,60 g; relación hepatosomática: 1,17% \pm 0,19; relación digestosomática: 2,59% \pm 0,28).

Las actividades enzimáticas en extractos de diferentes porciones del tracto digestivo de la corvina, expresadas como actividad específica (unidades por mg de proteína), se muestran en la tabla I.

La actividad proteasa ácida determinada en extractos de estómago incubados a pH 2,0 con

hemoglobina como sustrato mostró valores elevados. Por el contrario, no se pudo detectar este tipo de actividad en ninguna otra zona del tubo digestivo. El resto de actividades enzimáticas estudiadas también mostraron cierta presencia en extractos estomacales, si bien en general muy por debajo de las medidas en tramos intestinales.

La actividad proteasa alcalina determinada en extractos intestinales incubados a pH 10,0 con caseína como sustrato mostró valores similares a lo largo de todos los tramos del tracto intestinal estudiados.

Tabla I.- Actividad específica (U/mg proteína; excepto quimotripsina en mU/mg proteína) de enzimas digestivas de extractos de estómago y diferentes tramos del intestino de corvina.

	pH	E	CP	IP	ID
Proteína soluble (mg/ml)		15,63±0,46	10,22±0,33	10,02±0,33	11,73±0,54
Proteasa ácida	2	27,45 ^c ±1,94	-	-	-
Proteasa alcalina	10	-	14,14 ^d ±0,79	13,06 ^c ±0,95	16,71 ^d ±0,78
Tripsina	8,2	1,04 ^a ±0,08	4,32 ^b ±0,23	1,00 ^b ±0,07	1,13 ^a ±0,12
Quimotripsina	7,8	19,34 ^a ±1,53	501,61 ^d ±16,25	245,99 ^c ±14,37	193,41 ^b ±13,71
T/QT*		-	8,62 ^b ±0,60	4,05 ^a ±0,59	6,73 ^b ±0,71
Lipasa	7,4	1,09 ^a ±0,07	6,21 ^d ±0,21	4,38 ^c ±0,13	1,99 ^b ±0,20
Amilasa	6,0	0,62 ^a ±0,03	2,65 ^c ±0,10	2,60 ^c ±0,12	1,32 ^b ±0,10

Los valores son medias±EEM, N=14. E: Estómago; CP: Ciegos pilóricos; IP: Intestino proximal; ID: Intestino distal.

*Quimotripsina expresada como mU/mg prot. **T/QT: Relación Tripsina/Quimotripsina.

Superíndices muestran diferencias significativas (P<0,05) entre diferentes porciones del digestivo.

En relación con las actividades proteolíticas específicas estudiadas, tanto la actividad tripsina como quimotripsina fueron claramente superiores en ciegos pilóricos que en tramos posteriores del intestino. La relación tripsina/quimotripsina (T/Q) fue superior en ciegos pilóricos e intestino distal y más reducida en la porción proximal del intestino.

Las actividades lipasa y amilasa también mostraron valores máximos en los extractos de ciegos pilóricos que disminuyeron a lo largo del tracto digestivo.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en cuanto a la actividad pepsina muestran valores superiores cuando se comparan con los resultados obtenidos en peces cultivados como el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*), que mostró valores de actividad proteasa ácida inferiores (10,5 U/mg proteína) (Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005). El motivo de las diferencias ha sido, probablemente, el menor tamaño de los lenguados (40 g) frente a los casi 200 g de las corvinas de nuestro experimento o el diferente contenido en proteína del pienso utilizado (47 % frente al 55 % en los lenguados).

Las actividades tripsina y quimotripsina presentaron su valor máximo en los ciegos pilóricos, con una alta relación entre ellas ($T/QT = 8,06$) que, de nuevo, pone de manifiesto el carácter carnívoro de la especie, en coincidencia con lo observado por Essed *et al.* (2002), quienes encontraron en especies de peces carnívoros, como el atún rojo, una actividad tripsina cuatro veces mayor que la quimotripsina, mientras que en peces omnívoros, como la carpa se ha descrito justo lo contrario (Jonas *et al.*, 1983).

Se ha establecido que la tripsina es una enzima clave en la utilización del componente proteico del alimento (Einarsson *et al.*, 1997), contribuyendo a un 40-50% de la digestión proteica y que juega un papel clave en la regulación del crecimiento de los peces controlando la biodisponibilidad intestinal de aminoácidos procedentes de la dieta. No parece extraño si se tiene en cuenta la enorme dependencia de los peces, especialmente carnívoros, de los aminoácidos tanto como fuente de nitrógeno, como de energía, ambas fundamentales para determinar el crecimiento, razón que explicaría su uso como predictor del crecimiento en peces.

La actividad lipasa mostró valores superiores en las primeras porciones del intestino, de forma similar a lo observado en otras especies de peces. Los valores máximos encontrados en nuestro experimento lo han sido en los ciegos pilóricos (4,95 U/mg proteína); pese a ello, estos valores son bajos si se comparan con los medidos en otras especies, lo que resulta sorprendente porque normalmente se han descrito mayores valores de actividad lipasa en peces carnívoros que en los omnívoros y herbívoros. Sin embargo, también se han observado bajos niveles de actividad lipasa en peces con bajo contenido en lípidos musculares (Achionye-Nzeh *et al.*, 2006), explicándolo por un bajo aprovechamiento de los lípidos de la dieta. Esto coincide con las bajas actividades observadas en esta especie, caracterizada por su carne magra (Grigorakis *et al.*, 2011) y por sus bajas necesidades de lípidos dietarios (Chatzifotis *et al.*, 2010).

La actividad amilasa mostró el mismo patrón observado para la lipasa, máxima en ciegos

pilóricos e intestino anterior y mínima en intestino posterior, con valores muy bajos de actividad en extractos de estómago. Este patrón anatómico de reparto de actividad amilasa es similar al encontrado en otras especies. La digestión de hidratos de carbono en los peces carnívoros es limitada debido a la escasez de estos nutrientes en su hábitat alimentario natural y suele mostrar valores inferiores a los de peces omnívoros; no obstante, los valores obtenidos en nuestro estudio son superiores a los observados en otras especies de peces carnívoros como dorada, trucha y anguila aunque muy inferiores a los observados en especies herbívoras como carpa, tenca y carpín dorado (Hidalgo *et al.*, 1999).

Posteriores investigaciones en las que se determine una posible adaptación de las actividades enzimáticas lipasa y amilasa a cambios en la composición de lípidos e hidratos de carbono del pienso serían de gran interés para contemplar la posibilidad de incluir estos componentes en la dieta de esta especie, con objeto de disminuir la utilización de la proteína como fuente de energía.

CONCLUSIONES

El presente estudio muestra una actividad digestiva en corvinas similar a la de otros peces carnívoros, con una relativamente alta actividad proteasa. La actividad pepsina, aunque inferior a la de peces alimentados con presas vivas, mostró valores similares a los peces cultivados en condiciones similares a las de nuestro experimento.

Se han observado bajos niveles de actividad lipasa coincidiendo con otros peces de bajo contenido en lípidos musculares. Por su parte, la actividad amilasa ha mostrado valores superiores a los observados en otras especies de peces carnívoros, lo que sugiere que esta especie, a pesar de su carácter carnívoro, tiene una relativamente buena capacidad para digerir los componentes hidrocarbonados de la dieta.

REFERENCIAS

Achionye-Nzeh C.G., Obaroh L., Adeniyi V. 2006. Muscle lipid content and lipase activity in the liver and digestive tract of some freshwater fishes (pisces: Teleostei). *J. Aquat. Sci.* 21: 5-8.

- Anson M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and catepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22: 248-254.
- Applebaum S., Holt G., 2003. The digestive protease, chymotrypsin, as indicator of nutritional condition in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Mar. Biol.* 142: 1159-1167.
- Chatzifotis S., Panagiotidou M., Papaioannou N., Pavlidis M., Nengas I., Mylonas, C.C. 2010. Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. *Aquaculture* 307: 65-70.
- Einarsson S., Davies P.S., Talbot C. 1997. Effect of exogenous cholecystokinin on the discharge of the gallbladder and the secretion of trypsin and chymotrypsin from the pancreas of the Atlantic salmon, *Salmosalar L.* *Comp. Biochem. Physiol.* 117: 63-67.
- Erlanger B.F., Kokowski N., Cohen W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.* 95: 271-278.
- Essed Z., Fernández I., Alarcón F.J., Moyano F.J. 2002. Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18: 99-107.
- Faulk C.K., Benninghoff A.D., Holt G.J. 2007. Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Rachycentron canadum* (L.). *J. Fish Biol.* 70: 567-583.
- Gjellesvik D.R., Lombardo D., Walther B.T. 1992. Pancreatic bile salt dependent lipase from cod (*Gadus morhua*): purification and properties. *Biochim. Biophys. Acta* 1124: 123-134.
- Grigorakis K., Fountoulaki E., Vasilaki E., Mittakos I., Nathanailides C. 2011. Lipid quality and filleting yield of reared meagre (*Argyrosomus regius*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 46: 711-716.
- Guzmán C., Gaxiola G., Rosa C., Torre-Blanco A. 2001. The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquacult. Nutr.* 7: 113-122.
- Hidalgo M.C., Urea E., Sanz A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170: 267-283.
- Hummel B.C.W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:1393-1399.
- Jonas E., Ragyanskil M., Olah J., Boross J. 1983. Enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* L.) and omnivorous (*Cyprinus carpio*

- L.) fishes. *Aquaculture* 30:145-154.
- Krogdahl A., Lea T.B., Olli J.J. 1994. Soybean protease inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acids digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 107: 215–219.
- Lazo J.P., Holt G.J., Arnold C.R., 2000. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquacul.Nutr.* 6:183-192.
- Rungruangsak-Torrissen K., Moss R., Andresen L. H., Berg A., Waagbø R. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmosalar L.*). *FishPhysiol. Biochem.* 32: 7–23.
- Saénz de Rodríguez M., Alarcón F. J., Martínez T.F., Ruíz F., Díaz M., Moyano, F.J. 2005. Caracterización de las proteasas digestivas del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 95-104.
- Sunde J., Taranger G.L., Rungruangsak-Torrissen K. 2001. Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmosalar L.*). *Fish Physiol. Biochem.* 25: 335–345.
- Walter H.E., 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. _Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. V. VerlagChemie, Weinheim, pp. 270-277.
- Ying F., A., Bais R. 1998. Amylase measurement with 2-Chloro-4-nitrophenyl maltotrioxide as substrate. *Clin. Chim.* 272: 137-147.

ACTIVIDAD DIGESTIVA DE LA CORVINA CULTIVADA (*ARGYRO SOMUS REGIUS*, ASSO 1801)

García-Mesa, S. (1), Sáez, M.I. (2), García-Gallego, M. (4), Martínez, T. (2), Cárdenas, S. (3), Suárez, M.D. (2).
 1 Departamento de Zoología, Universidad de Granada, Granada, España. Email: sgarciam@ugr.es
 2 Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería, Almería, España.
 3 Departamento de Producción, Centro IFAPA El Toruño, Puerto de Santa María, Cádiz.

OBJETIVO

El estudio del equipo enzimático digestivo de la corvina se ha centrado, hasta ahora, en los estadios larvarios o juveniles; para su correcta instauración en el mundo de la acuicultura es preciso conocer el equipamiento enzimático disponible en etapas posteriores para poder diseñar un pienso que se ajuste a sus capacidades digestivas

INTRODUCCIÓN

En peces carnívoros, la tripsina y la quimotripsina son enzimas claves encontrándose una relación directa entre la actividad de las mismas y el crecimiento de los peces. La tripsina, además de su propio efecto proteolítico, activa a otras enzimas pancreáticas pancreáticas, como la quimotripsina, en mamíferos y peces (Sunde *et al.*, 2001).

Otras enzimas digestivas, como lipasas y amilasas, adquieren importancia cuando se pretende incorporar altos niveles de lípidos y carbohidratos, con el fin de procurar un ahorro proteico del pienso con fines plásticos.

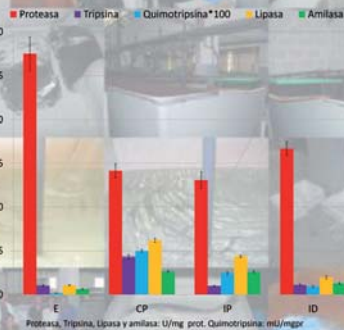
MATERIAL Y MÉTODOS

14 juveniles de corvina de 194 ± 5 g de peso, procedentes de El Toruño, en el Puerto de Santa María (Cádiz).

Se sacrificaron, según la Directiva 2010/63/EU, a continuación se extrajo el tubo digestivo y se dividió en los siguientes tramos: estómago (E), ciegos pilóricos (CP), intestino proximal (IP) e intestino distal (ID) y determinar, en cada uno, las siguientes actividades.

- Proteasa ácida, Anson (1938).
- Poteasa alcalina, Walter (1984).
- Tripsina, Erlanger *et al.* (1961) modif. por Faulk *et al.* (2007).
- Quimotripsina, Hummel (1959) modif. por Applebaum y Holt (2003).
- Amilasa, (Labkit, 30140), según (Ying y Bais, 1998).
- Lipasa, Gjellesvik *et al.* (1992) modif. por Lazo *et al.*, (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



	CP	IP	ID
Relación Tripsina/Quimotripsina	8,62±0,60	4,05±0,59	6,73±0,71

Globalmente, la actividad proteolítica fue elevada, tanto la ácida, como la total con una elevada relación T/QT (8.6).

La actividad lipasa se concentra en las primeras porciones del digestivo, al igual que en otras especies; aunque es más reducida que en otros peces, posiblemente relacionado con su bajo contenido de grasa muscular y quizá una reducida dependencia de las grasas.

La actividad amilasa presenta el mismo patrón de distribución que la lipasa, no obstante, los valores encontrados son superiores a los medidos en dorada, trucha y anguila (Hidalgo *et al.*, 1999), indicando una cierta capacidad para el buen uso digestivo de los carbohidratos.

BIBLIOGRAFÍA

- Hidalgo, M.C., Cordero, E., Sainza, A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170: 263-283.
- Sunde, J., Sarngser, G.I., Rungtongkum-Torsson, K. 2003. Digestive protease activities and free amino acids in white seabass as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Fish Physiol.* 29: 339-345.
- Wagner, M.J., 1988. Protease assay methods with hemoglobin, casein and azo-dye substrates. In: Bergmeyer, H.U., Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. V. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 770-777.
- Ying, J., and Bais, K. 1998. Amylase measurement with 3-O-Chloro-4-nitrophenyl maltoheptaose as substrate. *Chin. Chem. Lett.* 27: 131-132.
- Faulk, C.A., Banningshoff, A.D., Holt, G.J., 2007. Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Argyrosomus canadensis* L. *J. Fish Biol.* 70: 547-563.
- Gjellesvik, R.A., Lovdal, O., Waagbø, O. 1992. Proteolytic fish tank experiment. *Journal of the European Association of Fish Pathologists*, 12: 113-114.
- Anon, M. L. 1984. The activation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 23: 249-254.
- Applebaum, S., Holt, G. 2003. The digestive protease, chymotrypsin, as indicator of nutritional condition in larval red drum (*Scorpaenidae*). *Mar. Biol.* 142: 1139-1147.
- Hummel, R.C. 1959. A modified quantitative method of determination of specific trypsin and chymotrypsin. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 1385-1395.
- Lazo, J.F., Hek, G.J., Arnold, C.A., 2000. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum (*Scorpaenidae*). *Aquaculture* 181: 218-232.
- Eranger, B.F., Krebsbach, M., Cohen, W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.* 39: 271-278.



Análisis de macrofauna bentónica como servicio empresarial para los estudios ambientales en el medio marino

Aguirre E., Barro S., García S., Toribio A.

Aquatic BioTechnology S.L. C/ Académico Juan Luis Roche 18. 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, España.

info@aquaticbiotechnology.com

RESUMEN

La macrofauna bentónica esta constituida por un grupo de organismos mayores de 500µm, pertenecientes a los Phylum Mollusca, Crustacea, Echinodermata y Annelida; estos componen un eslabón de gran relevancia en los ecosistemas estuáricos y marinos ya que suponen una importante fuente de alimento para organismos superiores, y generan procesos de bioturbación que favorecen la oxigenación del sedimento y el reciclado de nutrientes. Además de por su relevancia ecológica, el interés por la macrofauna bentónica se debe a su valor como indicadores de la calidad del agua; en este contexto la inminente y definitiva implantación de la Directiva Marco del Agua y la Directiva Marco Sobre la Estrategia Marina, el aumento de la conciencia socio-medioambiental y la creciente explotación de nuevos recursos marinos (acuicultura, turismo, etc.), hacen que la necesidad de conocer y caracterizar la fauna y flora de los ambientes costeros sea a día de hoy una herramienta esencial en la mayoría de estudios ambientales en el medio marino. Mientras que dichos estudios para evaluar la calidad ambiental suelen ser llevados a cabo por las empresas promotoras de los proyectos que pretenden utilizar o modificar el medio marino, el análisis taxonómico de macrofauna bentónica debe ser llevado a cabo por profesionales con experiencia y formación superior en la identificación de los diferentes organismos. Por ello en este trabajo se propone que el análisis de macrofauna bentónica pueda ser ofertado como un servicio dentro del

entramado empresarial, y se señala su importancia a corto-medio plazo, abordando su marco legal y social, las diferentes técnicas de muestreo para recolectar muestras de macrofauna, su tratamiento en el laboratorio y el posterior valor de los informes técnicos emitidos.

PALABRAS CLAVE

Análisis taxonómicos, Directivas Marco de Agua y Estrategia Marina, estudios ambientales, indicador de calidad, macrofauna bentónica.

INTRODUCCIÓN

La macrofauna bentónica incluye a aquellos organismos que desarrollan gran parte de su ciclo vital sobre el fondo marino (bentos, del griego benthos), ya sea sustrato blando o duro. La macrofauna bentónica estaría constituida mayoritariamente por especies pertenecientes a los Phylum Crustacea, Mollusca y Annelida. A día de hoy sigue existiendo disparidad de criterios para clasificar por tamaño a la macrofauna, algunos autores defienden que serían aquellos organismos retenidos en un tamiz de 1mm de luz de malla (Bishop y Hartley, 1986; Lastra, 1991; Hacking, 1997), frente a los autores que definen a la macrofauna como individuos procedentes preferentemente de muestras recolectadas con una luz de malla de 0,5 mm (Holme y McIntyre, 1984; Pohle y Thomas, 2001). Ante esta dicotomía el Phylum Echinodermata, formado por organismos bentónicos, es incluido por algunos autores dentro del Macrozoobenthos.

La gran relevancia en los ecosistemas estuáricos y marinos de la macrofauna bentónica, reside en su importante papel como fuente de alimento para organismos superiores, por ejemplo, para las aves limícolas (Collazo *et al.*, 2002). Además, por sus hábitos alimenticios favorecen la reinyección de energía a la cadena trófica, a lo que hay que sumarle que presentan un valor adicional en la evolución del sustrato donde residen, ya que favorecen la oxigenación del sedimento y el reciclado de nutrientes, al producir fenómenos de bioturbación ligados a su desplazamiento por el sustrato, a la construcción de tubos sobre este o por tener en algunos casos tendencias detritívoras, etc.

Históricamente la caracterización de la macrofauna bentónica de un sistema era realizada por personal científico especializado, generalmente llevada a cabo por investigadores,

doctorandos, etc., y los objetivos se enmarcaban normalmente en el ámbito de la investigación y la actividad universitaria. La creciente conciencia social para respetar y conservar el medio ambiente ha generado la implantación de diferentes normas, directivas y planes de vigilancia que velan por la preservación de ecosistemas terrestres y marinos. En este contexto, podemos destacar la importancia de la macrofauna bentónica como indicador de la calidad del agua o como herramienta para la caracterización del medio, citando algunos ejemplos actuales: Directiva Marco de Agua, Directiva Marco Sobre la Estrategia Marina, Planes de Vigilancia Ambiental asociados a una Acuicultura sostenible.

En este contexto, son cada vez más las consultorías y empresas privadas que utilizan esta potente herramienta en sus estudios ambientales, por ello nuestro objetivo es ofertar el análisis taxonómico de macrofauna bentónica como un servicio dentro de este entramado empresarial. Esto es posible gracias a los profesionales con los que contamos en nuestro equipo, que poseen una experiencia y formación específica en la identificación de los diferentes organismos.

RUTINA DE TRABAJO

I. DISEÑO DEL MUESTREO

En función de la finalidad o procedencia de las muestras puede ser necesario colaborar con la empresa o entidad contratante para diseñar el muestreo, por ejemplo, definir los transectos, elegir el número de puntos de muestreo, determinar el volumen de muestra preciso, así como el material necesario para su recogida; todo ello con el propósito de obtener la máxima información posible de cada muestra. Para optimizar la recogida de muestras se hace primordial atender a la variabilidad tanto espacial como temporal de los parámetros ambientales reinantes en la zona, tipos de hábitats presentes en el sistema, etc. (Subida, 2008; Tagliapietra y Sigovini, 2010).

Si por el contrario, el equipo de profesionales dedicados a la Identificación de Macrofauna Bentónica recibe las muestras, ya tomadas y fijadas, será de vital importancia para el éxito del estudio recibir por parte del contratante, la máxima información posible referente a:

- ❖ Procedencia (Provincia (localidad), Cádiz (Tarifa))
- ❖ Punto de muestreo (localización exacta, (Playa chica, $z=10$), PC10)

- ❖ Profundidad
- ❖ Tipo de sustrato
- ❖ Conservante

II. TOMA DE MUESTRAS

La instrumentación y dispositivos a usar vendrán marcados, principalmente, por el tipo de fondo sobre el que se desarrollarán los muestreos, por la profundidad de la zona, de la necesidad o no del uso de una embarcación auxiliar y sobre todo, del volumen muestral (Tagliapietra y Sigovini, 2010). La recogida de muestras bentónicas se realiza mediante la instrumentación mostrada en la tabla I.

Tabla I.- Ventajas e inconvenientes de la instrumentación utilizada en la toma de muestras bentónicas.

Instrumento	Ventajas	Inconvenientes
Draga Van Veen	De fácil manejo dado su poco peso, es ideal para muestreos en zonas de sustrato blando a desarrollar a grandes profundidades.	Volumen muestral desigual.
Draga Ekman	Por su forma ofrece una muestra muy homogénea, respetando la composición vertical del sustrato estudiado. Al ser más pesada que la Van Veen es usada en sustratos más consistentes.	Más voluminosa y pesada lo que dificulta su manipulación.
Corer	Comúnmente usado para muestreos en playas, zonas de marismas, de fácil acceso a pie o de poca profundidad. De fácil construcción y muy adaptable al volumen muestral deseado.	Uso restringido a su colocación manual.
Buzo	Muy útil para zonas someras y de sustrato duro, realizando el “raspado” o la toma de muestras manualmente.	Limitación por turbidez, profundidad, etc.
Trampas / sustrato artificial	Práctica más asociada a la investigación.	

Además de la instrumentación necesaria para la toma de muestras, durante este proceso también es importante tener en cuenta el replicado de las mismas. El replicado es un procedimiento muy útil para paliar el efecto de la variabilidad espacial del medio, y consiste en coger varias muestras de un mismo punto, lo que otorga mayor veracidad al estudio.

Por otra parte, también es aconsejable realizar un tamizado previo a la fijación de la muestra recolectada, ya que puede ayudar a una mejor conservación de las especies objetivo, al evitar una presión excesiva, y potenciar la acción del conservante

Las muestras recolectadas deben ir correctamente rotuladas, para evitar posibles confusiones, pérdidas, etc. La información básica que debe aparecer en la etiqueta es el nombre o número del punto de muestreo y el número de réplica.

Es primordial asumir que para el éxito de la identificación se debe manejar la máxima información posible sobre las muestras. De hecho, saber la procedencia de las muestras puede ayudar en la elección de la claves a utilizar, e incluso una vez llegado a nivel género, corroborar con los datos de distribución geográfica si se trata de una u otra especie.

III. FIJACIÓN, CONSERVACIÓN Y LAVADO DE LAS MUESTRAS

Una vez recogida la muestra y habiendo realizado un tamizado previo, se procede a la fijación de la misma, los fijadores más comunes son la formalina (10%), el formol (4%) o el etanol. Sin embargo, cada vez es más habitual exponer la muestra recién recogida a una solución relajante de manera previa a la adicción del fijador, (por ejemplo compuestos tipo $MgCl_2$ para macrofauna, o clavo para ictiofauna); este tipo de soluciones minimizan el estrés de los organismos y merman la rotura de ciertas estructuras corporales importantes para una correcta identificación (Tagliapietra y Sigovini, 2010).

Antes de proceder al envío de las muestras al laboratorio, hay que almacenarlas de manera que se garantice que la muestra permanezca inalterable hasta su recepción en las instalaciones de la Empresa o Universidad donde se vayan a realizar los análisis. Una vez recibidas, se realizará un lavado de las muestras para:

- a. En caso de que no se haya producido un tamizado in situ de las muestras, facilitar el posterior proceso de “sorting” o triado.
- b. Cambiar el fijador usado por un conservante menos agresivo tanto para los organismos a estudiar como para el propio personal encargado de las tareas de triado e identificación. Generalmente ETOH al 70% con o sin adicción de glicerina.

IV. TRIADO

El proceso de triado puede realizarse siguiendo dos procedimientos:

- a. Uso del estereomicroscopio, es el más corriente y extendido, consiste en ir depositando porciones de muestra en una placa Petri de vidrio e ir buscando, con la ayuda de unas pinzas, las especies-objetivo. Posibilita la identificación de especies frecuentes por reconocimiento y repetición.
- b. Tinción con Rosa de Bengala, constituye una alternativa al procedimiento anterior, para ello se añade dicho colorante a la muestra durante el proceso de fijación para que se produzca la tinción de la materia orgánica. Posteriormente se vierte la muestra en una bandeja y con la ayuda de luz artificial, se extraen las especies-objetivo. Facilita el triado pero los organismos son incluidos en diferentes pocillos, separados en grandes grupos, exigiendo luego una inversión de tiempo para clasificarlos por familias u ordenes y proceder, finalmente, a una identificación más exhaustiva.

V. IDENTIFICACIÓN DE MACROFAUNA BENTÓNICA:

Antes de dar comienzo a las tareas de identificación es muy importante consensuar con la empresa o entidad contratante el nivel de identificación requerido en función de las necesidades del proyecto o estudio a ejecutar. Sobre todo porque la inversión en tiempo varía mucho si se precisa llegar a nivel especie o si la identificación es útil a nivel familia o género (Tagliapietra y Sigovini, 2010).

La identificación se lleva a cabo siguiendo claves dicotómicas, por ello es recomendable contar con una extensa bibliografía que abarque diferentes regiones, mares y sistemas.

En cuanto a las principales dificultades que pueden surgir durante las tareas de identificación de Macrofauna Bentónica están:

- ❖ El desconocimiento de la relevancia y valor de este tipo de trabajos.
- ❖ El déficit de profesional cualificado.
- ❖ La falta de bibliografía actualizada para determinados grupos.
- ❖ O que los organismos se encuentren en mal estado.

El servicio de identificación de Macrofauna bentónica que ofrecemos en Aquatic BioTechnology cubre ampliamente todas estas necesidades y carencias con el objetivo de ofrecer a nuestros clientes la máxima calidad; es más, nuestros resultados nos avalan,

llegando a identificar a nivel de especie el 90% de los individuos.

VI. INFORME FINAL:

Una vez terminado el análisis ofrecemos a los clientes dos tipos de informes:

- a. Descriptivo, este informe incluye únicamente datos tabulados y sus representaciones gráficas, es decir, los resultados no se interpretan.
- b. Analítico, este es un informe más completo en el que a los resultados obtenidos se le aplican técnicas estadísticas univariantes que permiten calcular los índices de diversidad tradicionales (Shannon-Wiener, Simpson, Pielou o Margalef) y análisis multivariantes como Clúster o nmMDS, que permite detectar visualmente diferencias de composición faunística entre muestras.

RELACIÓN CON OTROS ANÁLISIS TAXONÓMICOS

Aparte de la relevancia de la identificación de Macrofauna Bentónica para los estudios ambientales en el medio marino, no hay que olvidarse de que existen otros grupos de organismos que podemos encontrar en la columna de agua, y que el análisis taxonómico de estos grupos al igual que el de la macrofauna bentónica, nos sirven como indicadores de las condiciones ambientales de su hábitat; entre estas alternativas de análisis cabe destacar los siguientes:

- a. Análisis de muestras fitoplanctónicas, es otro de los servicios que ofrecemos en Aquatic BioTechnology, para ello identificamos y cuantificamos organismos fitoplanctónicos de tamaño superior a 20 micras, incluidas las especies tóxicas que son de especial importancia para conocer la calidad del agua en el sector de la acuicultura.
- b. Análisis de muestras zooplanctónicas, también incluido en la oferta de servicios de Aquatic BioTechnology, ya que identificamos y cuantificamos grandes grupos taxonómicos de mesozooplankton, organismos superiores a 200 micras.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo al proyecto por parte de la Universidad de Cádiz, así mismo agradecemos a Patricia García, a Reyes Sánchez y a Judit Castro por su colaboración en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Bishop J.D., Hartley, J.P. 1986. Comparison of the fauna retained on 0,5 mm and 1,0 mm meshes from benthic samples taken in the Beatrice Oilfield, Morray Firth, Scotland. *Proceedings of the Royal Society of Edimburgh* 91(B): 247-262.
- Collazo J.A., O'Harra D.A., Kelly C.A. 2002. Accesible habitat for shorebirds: Factors influencing its availability and conservation implications. *Waterbirds* 25 (Suppl 2): 13-14.
- Tagliapietra D., Sigovini M. 2010. Benthic fauna: collection and identification of macrobenthic invertebrates, NEAR Curriculum in Natural Environmental Science. *Terre et Environnement* 88: 253–261.
- Hacking N. 1997. *Sandy beach macrofauna of the Eastern Australia: A Geographical Comparison*. Ph.D. Thesis University of New England, Australia.
- Holme N.A., McIntyre A.D. 1984. *Methods for the Study of Marine Benthos*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 387 pp.
- Lastra M. 1991. *Cartografía y dinámica de la macrofauna bentónica submareal de los sustratos blandos de la bahía de Santander*. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- Pohle W., Thomas, L.H. 2001. *Monitoring protocol for marine benthos: Intertidal and subtidal macrofauna*. Marine Biodiversity Monitoring Committee (Atlantic Maritime Ecological Science Cooperative, Huntsman Marine Science Centre) to the Ecological Monitoring and Assessment Network of Environment Canada., 28 pp.
- Subida M.D. 2008. *Colonization and sucesion of macrofauna in artificial substrates*. Tesis doctoral, Universidad de Aveiro.

Análisis de macrofauna bentónica como servicio empresarial para los estudios ambientales en el medio marino



Aguirre E. (1), Barro S. (1), García S. (1) y Terribio A. (1)

1 Aquatic BioTechnology S.L./Académico Juan Luis Roche 18. 11500 El Puerto de Santa María, España
info@aquaticbiotechnology.com



¿Que es la macrofauna bentónica?

Incluye mayoritariamente a especies pertenecientes a los Phylum Crustacea, Mollusca y Annelida que desarrollan gran parte de su ciclo vital sobre el fondo marino, ya sea blando o duro. Estos organismos componen un eslabón de gran relevancia en los ecosistemas estuáricos y marinos como fuente de alimento para otros organismos superiores, además, contribuyen a la oxigenación del sedimento y el reciclado de nutrientes mediante fenómenos de bioturbación.



Contexto científico

Tradicionalmente la caracterización de la macrofauna bentónica de un sistema era realizada por personal científico especializado y los objetivos se enmarcaban normalmente en el ámbito de la investigación y la actividad universitaria. Sin embargo, las nuevas tendencias en gestión ambiental promovidas por la implantación de diferentes normas y directivas ponen de manifiesto la importancia de la Macrofauna Bentónica como indicador de la calidad del agua, siendo una potente herramienta en estudios ambientales.

Dado que las consultorías y las empresas privadas son normalmente las encargadas de llevar a cabo los estudios ambientales, nuestro objetivo es ofertar el análisis taxonómico de macrofauna bentónica como un servicio dentro del entramado empresarial. Esto es posible gracias a los profesionales con experiencia y formación superior en la identificación de los diferentes organismos con los que contamos en nuestro equipo.

Rutina de trabajo

I. Diseño del muestreo:

Según el tipo de estudio es importante definir los transectos, el número de puntos de muestreo, el volumen de muestra, el material necesario, parámetros ambientales, tipos de hábitats presentes, etc., para el éxito del mismo. Para un correcto estudio de la macrofauna bentónica es necesario disponer de cierta información relativa a las propias muestras, por ejemplo: procedencia, punto de muestreo, profundidad, tipo de sustrato, o conservante.

II. Toma de muestras:

En función del tipo de fondo, la profundidad y el volumen muestral, la instrumentación y el modo de tomar la muestra varía, siendo lo más habitual el uso de la Draga Van Veen, la Draga Ekman, el Corer o un buzo.

Es preferible disponer de muestras replicadas para paliar el efecto de la variabilidad espacial del medio y realizar un tamizado, previo a la fijación de la muestra recolectada, para ayudar a una mejor conservación de los organismos.



III. Fijación , conservación y lavado de las muestras:

Tras la recolección de las muestras es aconsejable utilizar una solución relajante que minimice el estrés y mermé la rotura de ciertas estructuras corporales de los organismos, para después proceder a la fijación de la muestra con Formalina (10%), Formol (8%) o Cianol.

El almacenamiento ha de garantizar que la muestra permanezca inalterable. Una vez que recepcionamos las muestras, se realiza un lavado de las mismas para tamizarlas y cambiar el fijador por un conservante menos agresivo.

IV. Triado:

Existen dos procedimientos:

a) Mediante el uso de un estereomicroscopio, placa Petri de vidrio y pinzas se separan las especies objetivo. Posibilita la identificación de especies frecuentes por reconocimiento y repetición.

b) Añadiendo Rosa de Bengala para la tinción de la materia orgánica y extraer las especies-objeto por contraste. Facilita el triado, pero exige posteriormente una identificación más exhaustiva.

V. Identificación de Macrofauna Bentónica:

El nivel de identificación requerido varía en función de las necesidades del estudio.

La identificación se lleva a cabo siguiendo claves dicotómicas, y bibliografía que abarque diferentes regiones, mares y sistemas. El tiempo de identificación dependerá de si se precisa llegar a nivel especie o si basta con el nivel de familia o género.

VI. Informe Final:

Una vez terminado el análisis ofrecemos a los clientes dos tipos de informes:

Descriptivo, este informe incluye únicamente datos tabulados y sus representaciones gráficas, es decir, los resultados no se interpretan.

Analítico, este es un informe más completo en el que a los resultados obtenidos se le aplican técnicas estadísticas univariantes que permiten calcular los índices de diversidad tradicionales (Shannon-Wiener, Simpson, Pielou o Margalef) y análisis multivariantes como Clúster o nMDS, que permite detectar visualmente diferencias de composición faunística entre muestras.



Escanea y descubre
Aquatic BioTechnology



@aquaticbiotech

facebook.com/aquaticbiotechnology

info@aquaticbiotechnology.com

www.aquaticbiotechnology.com

Actividad enzimática en digestivo de *Argyrosomus regius*

García¹ L., Yamuza² M.P., Bruzón² M.A., Moyano³ F.J.

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Cádiz. 11510 Puerto Real. Cádiz.

²IFAPA Centro “El Toruño”. Camino Tiro Pichón s/n. 11500. El Puerto de Santa María. Cádiz.

³Departamento de Biología Aplicada, CITE II-B. Universidad de Almería. Carretera Sacramento s/n. E-04120 La Cañada de San Urbano (Almería).

laura82gp@gmail.com

RESUMEN

La corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801), pertenece a la familia de los Esciénidos. Sus excelentes características de crecimiento y fecundidad la convierten en una buena candidata para la diversificación de la acuicultura. Para establecer los requerimientos nutritivos y las capacidades digestivas de cualquier especie, es necesario estudiar su maquinaria enzimática. Como especie carnívora, sus enzimas principales son las proteasas. Se estudió la evolución de la actividad enzimática (en estómago e intestino anterior) antes y después de la ingesta de alimento de 50 individuos alimentados una vez al día.

PALABRAS CLAVE

Enzimas, proteasas, estómago, intestino, corvina, *Argyrosomus regius*.

INTRODUCCIÓN

La corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801), pertenece a la familia de los Esciénidos que incluye 70 géneros y 270 especies. Su distribución es subtropical (65°N - 6°S, 23°O - 36°E) al este del Océano Atlántico; de Noruega a Gibraltar y Congo, incluyendo el Mediterráneo y el mar Negro. Se han observado migraciones al mar Rojo a través del canal de Suez (FishBase.org). Es una especie eurihalina. Sus hábitos son pelágicos pudiéndose encontrar a profundidades entre 15 y 300 metros. Muchas especies de su familia están limitadas en su distribución geográfica, algunas son endémicas, y muchas se limitan esencialmente a aguas costeras intensamente explotadas donde probablemente hay pocos refugios de pesca. (Sadovy y Cheung, 2003).

Es una especie de crecimiento rápido y elevada fecundidad. El desove se produce preferentemente en aguas poco profundas, aguas salobres, estuarios y marismas, los que son también el hábitat de los estadios larvales y juveniles tempranos (González-Quirós *et al.*, 2011).

La corvina *A. regius* es en este momento objeto de interés en el Mediterráneo de cara a su cría comercial, pues posee unas características biológicas excelentes que la acreditan como una magnífica candidata para la diversificación de la piscicultura marina. (Jiménez *et al.*, 2005). Se ha podido observar como la corvina se adapta bastante bien a los diferentes sistemas de engorde, por tanto, la elección de uno u otro responde a los intereses del productor o al tipo de producto que desee comercializar. El engorde extensivo en esteros es aconsejable si se busca un producto ecológico o con un distintivo de calidad característico de este tipo de producción, aunque esto implica un mayor precio. En la producción en estanques de agua de baja salinidad (<36 g/L), el crecimiento es alto, admite mayor capacidad de carga y se podría conseguir una producción anual que fuera directamente al mercado como producto fresco. El cultivo intensivo en viveros flotantes ya es para producciones más grandes, obteniéndose mayores tamaños y rendimientos, así que cabe plantearse el procesado de la corvina para la obtención de un producto con más valor añadido (Cárdenas, 2011).

Se trata de una especie muy voraz, aunque sus presas varían según la época del año y su talla: los juveniles comen pequeños peces demersales y crustáceos (miscidiáceos y camarones) y cuando llegan a 30-40 cm, se alimentan de peces pelágicos y cefalópodos. Existen pocos estudios sobre el crecimiento, la alimentación y dietas específicas para esta especie. Es necesario establecer los niveles de nutrientes para optimizar el crecimiento y la eficiencia nutricional, ya que hasta ahora su alimentación se ha basado en datos de otras

especies (Martínez-Llorens *et al.*, 2011).

Entre las distintas facetas de estudio que es necesario abordar, la nutrición es un aspecto cuya evaluación es obligada de cara al cultivo de cualquier organismo, lo que significa establecer sus requerimientos nutritivos y sus capacidades digestivas y de transformación de los alimentos. Se sabe que las características de las enzimas presentes en el aparato digestivo son un reflejo del hábito alimentario de cada especie (Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005).

Al tratarse de una especie carnívora, como la mayoría de especies cultivadas, las principales enzimas de su aparato digestivo son la *proteasas*. Dada la importancia de éstas, se han hecho numerosos estudios en especies cultivadas como lenguado (Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005), atún (Essed *et al.*, 2002), dorada y dentón (Alarcón *et al.*, 1997).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se dispuso de un tanque con 50 individuos de 207,1 g de peso medio y 27,6 cm de longitud total media. Para establecer la dosis de pienso que los individuos iban a tomar se hizo una prueba de alimentación tras un periodo de ayuno, estableciéndose una dosis de 400 g. Esta cantidad fue suministrada durante cuatro semanas todos los días a las 8:00 horas. Tras este periodo de habituación, se procedió al muestreo una hora antes de la toma y una, tres, cinco, siete, nueve y doce horas tras la toma, sacrificando cinco individuos por cada hora de muestreo. Tras el periodo de habituación, los individuos tenían un peso medio de 250,49 g y 30,1 cm de longitud total.

Para la obtención de extractos los individuos fueron diseccionados y se extrajo su aparato digestivo, tomándose como muestra el estómago y la porción anterior del intestino junto con los ciegos pilóricos. Cada muestra fue pesada y se midió su pH. Para su homogenización las porciones fueron diluidas en agua destilada en proporción 1:2. Los extractos obtenidos fueron centrifugados a 4.000 rpm durante 40 minutos a 4°C, después se recogió el sobrenadante y se guardó a -20°C.

Para cuantificar la actividad de proteasas básicas en los extractos de intestino, se procedió mediante el método de Kunitz (1947) modificado por Walter (1984). Para medir la actividad de proteasas ácidas en los extractos de estómago, se utilizó el método de Anson (1938).

RESULTADOS

En estómago (Fig.1) la actividad es máxima una hora antes de la ingesta de alimento y disminuye progresivamente para estabilizarse tres horas después de la toma. En estómago la actividad proteasa es ácida, sin embargo el pH estomacal de los individuos, no sufre grandes variaciones e incluso disminuye con el descenso de actividad.

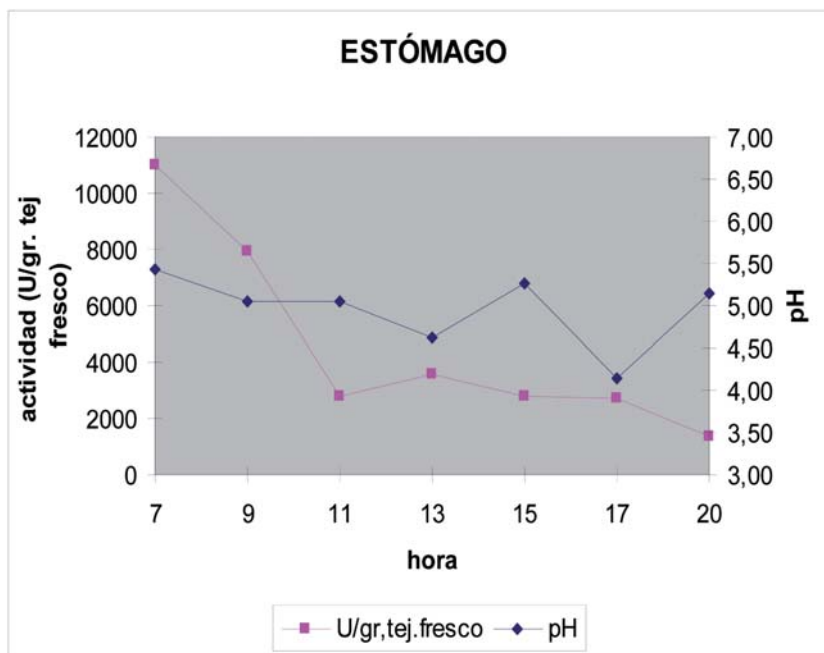


Figura 1.- Actividad de estómago, expresada en gramos de peso de estómago, y su pH frente a la hora.

La actividad en intestino (Fig. 2) tiene dos picos, uno a las 13:00 –cinco horas después de la toma- y otro a las 17:00 horas – siete horas después de la toma- siendo el pico de las 13:00 mayor que el de las 17:00. En intestino la actividad proteasa es alcalina, el pH en el intestino varía aún menos que en estómago y se mantiene en torno a 6 durante todas las horas muestreadas.

La actividad proteasa (Fig. 3), de tipo ácido, es del orden de diez veces más que la encontrada en intestino.

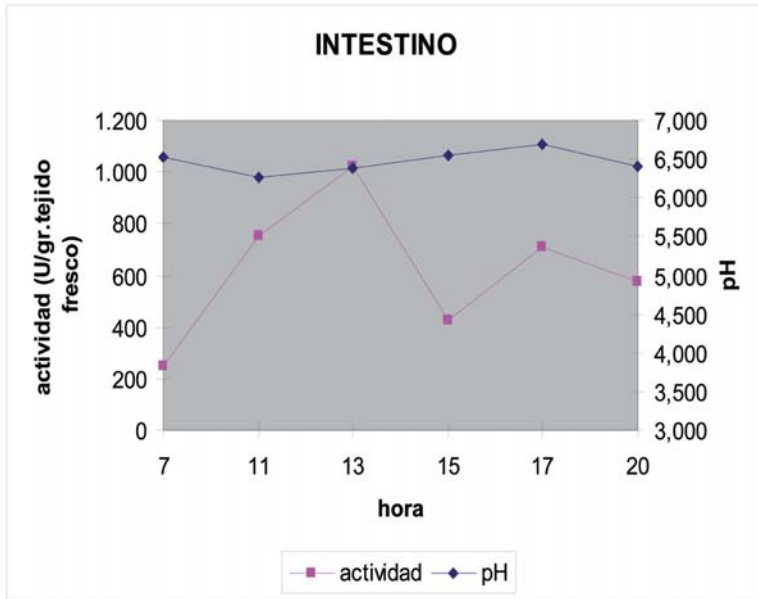


Figura 2.- Actividad de intestino, expresada en unidades por gramo de peso de intestino, y pH frente a la hora.

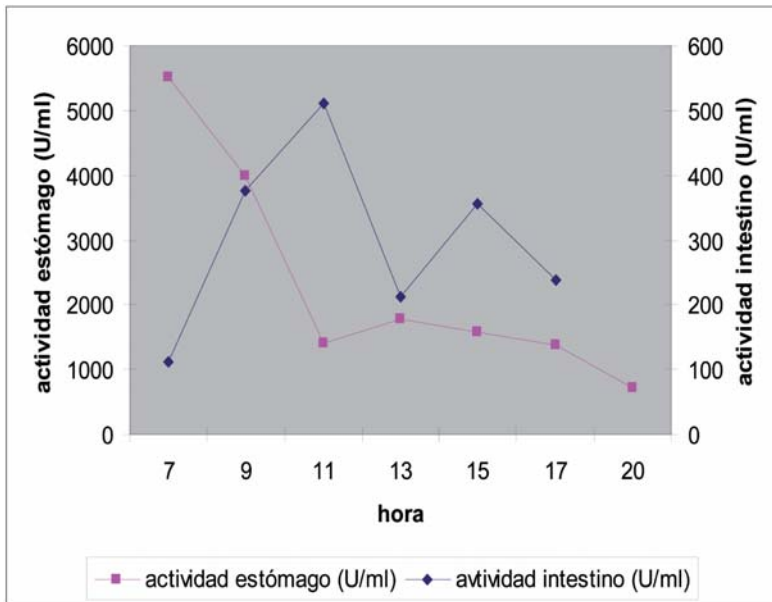


Figura 3.- Actividad de estómago e intestino expresada en unidades por mililitro.

DISCUSIÓN

La mayor parte de la bibliografía sobre actividad enzimática en digestivo de peces se centra en aspectos descriptivos. Dado que el momento de muestreo y el historial alimenticio de los animales empleados influye enormemente en la cantidad de actividad, los datos obtenidos por un autor son difíciles de comparar con los de otro (Moyano, 2006). Además, algunos de estos estudios se han llevado a cabo empleando extractos escasamente purificados, por lo que los resultados obtenidos no se refieren a una única enzima sino al conjunto de actividades de tipo proteasa o amilasa presente en el digestivo del animal (Moyano, 2006).

El tipo y funcionalidad de las enzimas digestivas presentes en cualquier especie acuática es el resultado de un proceso evolutivo en el que el principal factor de selección ha sido sin duda el régimen alimenticio, tanto desde el punto de vista de la composición de los alimentos ingeridos preferentemente como de las pautas de alimentación (Moyano, 2006).

En estudios sobre actividad enzimática en digestivo de especies susceptibles de ser cultivadas como lenguado (Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005), atún (Essed *et al.*, 2002), dorada y dentón (Alarcón *et al.*, 1997), podemos encontrar una descripción bioquímica del funcionamiento de las proteasas que puede servir para mejorar la formulación de los piensos, adecuar la frecuencia de alimentación y en definitiva optimizar la alimentación.

En lenguado, una especie de hábitos alimenticios diferentes a los de la corvina, la actividad proteasa ácida es menor que la alcalina (Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005). En cambio, en especies como el atún, especie carnívora como *A. regius*, se encontraron valores de actividad en estómago de 4.294,00 U/mL y en intestino de 332,9 U/mL (Essed *et al.*, 2002), similares a los obtenidos en este estudio. La obtención de valores de actividad en estómago superiores a los de la actividad en intestino apunta a una alimentación estrictamente carnívora por parte de las especies que las presentan, algo que se debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar su alimentación.

Nuestros resultados fueron comparados con el estudio realizado por Alarcón *et al.* (1995) sobre la digestión proteica en distintas especies de peces cultivados y no cultivados actualmente. Así pudimos observar que el pH medido en el interior del estómago fue menos ácido que el óptimo esperado. Los pH óptimos para la mayoría de las especies oscilan entre pH 2,5 y 3 encontrándose los pH *in situ* próximos a 5. Nuestro resultado se encuentra dentro de este rango. Para la actividad alcalina el pH fue similar al obtenido por Alarcón *et al.* (1995) para *S. aurata* y por Benítez y Tiro (1982) para *Ch. chanos*.

El haber realizado un muestreo secuencial, antes y después de la toma de alimento, nos da una visión general de cuánto dura el proceso digestivo. A partir de las 11:00 horas, desciende la actividad en estómago coincidiendo con el aumento en intestino. Esto se debe a que el bolo alimenticio está pasando desde el estómago al intestino. En estómago la actividad es máxima una hora antes de la toma, lo que significa que los individuos son fáciles de habituar a una pauta alimenticia en la que se aproveche mejor el alimento, esto supone una gran ventaja en su cultivo. El tiempo que dura la actividad, tanto en estómago como en intestino, es indicativo de la duración de la digestión y debe tenerse también en cuenta a la hora de alimentar a los individuos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con fondos JACUMAR.

BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón F.J., Díaz M., Moyano F.J., Abellán, E. 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead seabream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemistry* 19: 257–267
- Alarcón F.J., Moyano F.J., Díaz, M. 1995. Actas del V Congreso Nacional de acuicultura (Barcelona, España).
- Anson M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22:79-89.
- Benítez L.V., Tiro L.B. 1982. *Mar. Biol.* 71:309-315
- Cárdenas S. 2011. Cuadernos de acuicultura. Crianza de la corvina (*Argyrosomus regius*). FOESA, CSIC y Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid, 100 páginas.
- Essed Z., Fernández I., Alarcón F.J., Moyano, F.J. 2002. Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18: 99-107.
- González-Quirós R., del Árbol J., García-Pacheco M., Silva-García A.J, Naranjo J.M.,

- Morales-Nin B. 2011. Life-history of the meagre *Argyrosomus regius* in the Gulf of Cádiz. (SW Iberian Peninsula). *Fisheries Research* 109:140–149.
- Jiménez M.T., Pastor E., Grau A., Alconchel J.I., Sánchez R., Cárdenas S. 2005. Revisión del cultivo de esciénidos en el mundo, con especial atención a la corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 169-175
- Kunitz, M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *J. Gen. Physiol.* 30: 291-310.
- Martínez-Llorens S., Espert J., Moya J., Jover-Cerdá M., Tomás-Vidal A. 2011. Growth and nutrient efficiency of meagre (*Argyrosomus regius* Asso1801) fed extruded diets with different protein and lipid levels. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 3: 195-203.
- Moyano F.J. 2006. Bioquímica digestiva en especies acuicultivadas: Aplicaciones en nutrición. En: Avances en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. L. Elisabeth, C. Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. G. Nieto-López, D.A. Villareal-Cavazos, A. C. Puello-Cruz y A. García-Ortega (eds).. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- Sadovy Y., Cheung W.C. 2003. Near extinction of a highly fecund fish: the one that nearly got away. *Fish and Fisheries* 4: 86-99.
- Sáenz de Rodríguez M., Alarcón F.J., Martínez M.I., Ruíz F., Díaz, M., Moyano F.J. 2005. Caracterización de las proteasas digestivas del lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 95-104.

Análisis del sistema productivo acuícola en Puerto Almanza, Tierra del Fuego. Sostenibilidad y consolidación de la zona de cultivo de mejillón (*Mytilus chilensis*)

Bertolotti¹ M.I., Pagani² A., Gualdoni P., Errazti² E.

¹Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero –INIDEP. Paseo Victoria Ocampo N° 1 Escollera Norte, Mar del Plata, Argentina.

²Facultad de Ciencias Económicas y Sociales. Universidad Nacional de Mar de Plata. Funes 3260, Mar del Plata, Argentina.

maricelb@inidep.edu.ar

RESUMEN

En la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur (República Argentina) el cultivo de mejillón (*Mytilus chilensis*) se realiza en la región denominada Puerto Almanza ubicada en la Bahía Brown en el Canal de Beagle. El proceso de desarrollo de la actividad se inició en 1996 y contó con la asistencia y asesoramiento técnico y financiero de múltiples instituciones, con resultados diversos. Las producciones máximas alcanzadas fueron de 45,5 t en 2004 y 33,3 t en 2007, observándose fluctuaciones y disminuciones especialmente en 2009 y 2010 atribuibles a los efectos de mareas rojas. A partir de los diagnósticos realizados (Bertolotti *et al.*, 2011 y Pagani *et al.*, 2012), el objetivo de este trabajo es analizar la sostenibilidad y consolidación de la zona de producción (cultivo) de moluscos bivalvos. Para obtener información de la actividad artesanal e industrial se utilizaron encuestas *ad hoc* institucionales e individuales y las variables cuantitativas y cualitativas incluidas en los formularios, los cuales resultaron del acuerdo metodológico realizado en el marco de la Red ACUINNOVA (2008/2010), Red de Conocimiento perteneciente al CYTED (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo en Iberoamérica). Para evaluar la sostenibilidad de la actividad, se adaptó la Tabla de Puntuación (“Scorecard”) para la Consolidación de Sitios que se utiliza

para analizar parques en peligro, adecuándola al análisis de la consolidación de una zona de producción de moluscos bivalvos, (Martin y Rieger, 2003; *The Nature Conservancy*, 2003; 2007), teniendo en cuenta la normativa existente, las entrevistas realizadas y la disparidad de opiniones y criterios de los diferentes interesados. El cultivo de mejillón en Tierra del Fuego es una alternativa complementaria de desarrollo socio económico para la localidad de Puerto Almanza y se encuentra en una etapa de desarrollo incipiente, tanto en lo que respecta al sector artesanal como al industrial. La zona de cultivo aún no está consolidada y se estima que para alcanzar la sostenibilidad y la consolidación de las zonas delimitadas, se requiere de inversión básica en el corto plazo y de planeamiento a largo plazo.

PALABRAS CLAVE

Mitilicultura, producción, desarrollo, sostenibilidad, consolidación.

INTRODUCCIÓN

La actividad de acuicultura en la Provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur (República Argentina), está reglada por la ley de Pesca N° 244, de 1995. En su Capítulo IX, promueve el crecimiento y desarrollo, a la vez que establece las condiciones para el otorgamiento de las concesiones, así como el registro provincial de la actividad.

En Tierra del Fuego el cultivo de mejillón (*Mytilus chilensis*) se realiza en la zona denominada Puerto Almanza, ubicada en la Bahía Brown en el Canal de Beagle. El desarrollo de esta actividad se inicia en 1996 con un proyecto que contó con asistencia financiera de la Unión Europea, para colocar un *long line* en las islas Bridges. Los resultados positivos de la experiencia, indujeron a la provincia a asistir y asesorar proyectos similares, pero de menor escala, con emprendedores privados. Con la promulgación del Decreto Provincial N° 2159/00, se inicia el proceso de otorgamiento de permisos experimentales a escala piloto artesanal de acuicultura marina; en el año 2002, “se modificaría un artículo del capítulo IX referente a acuicultura de la ley Provincial N° 244, con la promulgación de la ley Provincial N° 537, en la cual se fija el plazo de los permisos de acuicultura por un lapso de hasta cinco (5) años, con una superficie para el cultivo de hasta cuatro hectáreas” (Fosati, 2011).

El proceso de desarrollo de la actividad contó con la asistencia y asesoramiento técnico y

financiero del Consejo Federal de Inversiones; primero con la Evaluación e Identificación de Sitios Aptos para Desarrollo de la Acuicultura, (Quirós *et al.*, 1993) y luego con el Proyecto “Apoyo para la Implementación, Desarrollo y Fomento del Cultivo de Mejillón (*Mytilus chilensis*) en el Canal Beagle”, desarrollándose la primera etapa en 2001 y la segunda en 2003.

En el cultivo de mejillón, unos pocos productores utilizan el sistema de suspensión *long line* (más económico pero con menor capacidad de flotación) y la mayoría utiliza balsas flotantes -bateas- construidas con madera de lenga, telgopor prensado revestido en redes y tambores de 200 litros metálicos o de fibra de vidrio (las redes y las cuerdas utilizadas, se obtienen del desecho de la actividad de la flota de altura). Los procesos de encordado, desdoble y cosecha se realizan en forma manual y para todas las tareas se utilizan embarcaciones menores. Un productor tiene una balsa de mejor calidad, construida con madera de eucalipto y flotación con pontones de acero, revestidos en fibra de vidrio muy resistente; el mismo realiza la cosecha en forma mecánica con una máquina que importó de Galicia, España y cuenta además con una embarcación específica para la cosecha. (Bertolotti *et al.*, 2011 y Pagani *et al.*, 2012). Los permisos vigentes en 2011 son dieciocho de mitilicultura; sin embargo, siete productores presentan cosechas sostenidas y solamente dos de ellos mantienen cosechas significativas, con posibilidad de ofrecer productos al mercado. Las producciones máximas alcanzadas fueron de 45,5 t en 2004 y 33,3 t en 2007 y durante 10 meses de 2010 no hubo producción, como consecuencia de las vedas por marea roja, registrándose una producción anual de 4 t (Fosati, 2011).

La actividad de procesamiento de mejillones se inicia en esta zona en 2011; el sector industrial quedó integrado por una sola empresa de capitales mixtos argentinos y españoles con una planta habilitada que realiza el procesamiento industrial y la comercialización de pescados, y mariscos, mejillones, centolla y centollón de manera regular (Bertolotti *et al.*, 2011 y Pagani *et al.*, 2012).

Los resultados que se presentan son parte del Proyecto Innovación y Sostenibilidad en los Sistemas Productivos Acuícolas: correspondiente a la Mitilicultura en Tierra del Fuego. El proyecto se inscribe dentro del Análisis de la Innovación en Acuicultura en Iberoamérica (ACUINNOVA), Red de Conocimiento perteneciente al CYTED (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo en Iberoamérica).

Los diagnósticos realizados de la actividad (Bertolotti *et al.*, 2011 y Pagani *et al.*, 2012) reflejan las posibilidades de su crecimiento y desarrollo endógeno, aunque se detectaron algunos problemas institucionales y sociales. El objetivo de este trabajo es analizar el estado de consolidación de la zona de producción (cultivo) de moluscos bivalvos y su sostenibilidad,

a partir de las percepciones de los principales actores e interesados.

MÉTODOS

La información analizada resulta de los documentos legales, informes oficiales y de la realización de encuestas institucionales e individuales. Las variables (cuantitativas y cualitativas) incluidas en los cuestionarios se establecieron en el acuerdo metodológico realizado en el II Seminario Internacional sobre Innovación en Acuicultura en Iberoamérica (Red ACUINNOVA) en Santiago de Compostela, España, del 14 al 23 de septiembre de 2009. Las respuestas utilizadas en este estudio corresponden a los siguientes temas: Organización e innovación, cooperación, canales de información, fuentes y obstáculos para lograr financiamiento, gobernabilidad, participación en las políticas públicas y también programas o acciones específicas (capacitación, información, mercados, incentivos fiscales, gestión ambiental).

Se contó con la colaboración del Jefe del Departamento de Acuicultura que proveyó toda la documentación sobre la actividad, coordinó la secuencia de entrevistas realizadas durante el mes de junio de 2011 y aseguró el traslado y visita a las instalaciones de Almanza.

La actividad artesanal se relevó a través de una encuesta institucional a los directivos (secretaria y miembros del consejo de administración) de la Cooperativa de Pescadores Artesanales del Fin del Mundo, que agrupa a pescadores artesanales, acuicultores y marisqueros de Ushuaia y Puerto Almanza, además de una encuesta específica a 13 integrantes de la cooperativa sobre un total de 16. En el sector industrial se realizó una entrevista en profundidad al propietario del único establecimiento industrial, considerándose como unidad de observación, al “establecimiento industrial”.

En el sector público, se realizaron entrevistas abiertas y en profundidad a los siguientes funcionarios: Subsecretario de Desarrollo Sustentable y Ambiente de Tierra del Fuego, Director de Investigación Pesquera y Ambiente Marino, Jefe del Departamento de Acuicultura, Director de Administración de Actividades Extractivas, Director de Laboratorio Ambiental, Jefe del Departamento Técnico, Coordinador del proyecto del Consejo Federal de Inversiones para la confección de un Manual de Buenas Prácticas de la actividad pesquera artesanal, Coordinador de Extensión Áulica Ushuaia, de la Universidad Tecnológica Nacional, Responsable del Proyecto Gestión de Calidad de Aguas para la Acuicultura, Coordinadora de proyectos de capacitación y asistencia técnica a productores de Río Grande, Ushuaia y Puerto Almanza para lograr el Sello de Calidad “Tierra del Fuego – Fin del Mundo”.

Para evaluar la sostenibilidad se adaptó la Tabla de Puntuación (“*Scorecard*”) para la Consolidación de Sitios utilizada para analizar parques en peligro, adecuándola al análisis de la consolidación de una zona de producción de moluscos bivalvos (Martin y Rieger, 2003; *The Nature Conservancy*, 2003; 2007). En el Anexo 1 se presentan los criterios y definiciones de los puntos de referencia utilizados para una zona de producción de moluscos bivalvos.

RESULTADOS

ACTIVIDADES BÁSICAS DE PROTECCIÓN Y MANEJO A LARGO PLAZO

Todos los entrevistados coinciden en que la actividad de mitilicultura es una alternativa para reducir el esfuerzo en otras especies, (especialmente centolla y centollón) y para que no desaparezca el mejillón de banco. También consideran como importantes ventajas a, la disponibilidad de zonas aptas para el cultivo con certificación de aguas, la disponibilidad de recursos de calidad (semilla) y el alto rendimiento de la especie.

El Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria -SENASA- reconoce dos zonas clase “A” de producción de moluscos bivalvos: ARTF 001, Punta Paraná y ARTF 002, Bahía Brown, por Resolución N° 433/10. Esta es la máxima categoría otorgable a la calidad de la producción local, a la calidad del ambiente en el que los mejillones son cultivados y a la calidad de las instalaciones, procedimientos y sistemas de control y monitoreo que el Estado Provincial realiza sobre el ambiente y la producción local.

El mantenimiento de las zonas clasificadas en la actualidad depende de la Dirección General de Desarrollo Pesquero y Acuícola, a través del Departamento de Acuicultura y del Laboratorio Provincial, que cuenta con la infraestructura y personal adecuados para el nivel de requerimiento actual, pero que sería insuficiente para cubrir todas las actividades de manejo. El Departamento ejecuta un programa de monitoreo por el que se han identificado las amenazas y el plan de manejo está en preparación. El personal del departamento recibe capacitación nacional e internacional, aunque ésta no responde a un plan sistemático.

Si bien se han clasificado las zonas y se distribuyeron las parcelas marinas y los predios terrestres, los mitilicultores perciben que las normas de acuicultura y ambientales son poco claras y carecen de articulación dentro del estado provincial, a la vez que no les parecen adecuadas para inducir al desarrollo de la actividad. Aunque el gobierno no transmite una normativa clara sobre el cuidado ambiental, los productores saben que el mantenimiento de las aguas y de las zonas clasificadas, son una fortaleza para su actividad.

Entre las políticas que pueden contribuir a mejorar sus actividades, los mitilicultores asignan gran importancia, a las obras de infraestructura básica dado que se carece de muelle, no existe un centro de expedición y además en Puerto Almanza hay severas carencias como la inexistencia de: un centro médico, escuela, red cloacal y red de gas natural.

Los problemas institucionales tienen que ver con la inexistencia de un plan de manejo de largo plazo, que contemple las necesidades de los productores y fije normas claras para el desarrollo de la actividad. El mismo debe prever una legislación que facilite la estabilidad de la actividad (concesiones con una duración mayor a la actual y regularización de los predios terrestres asignados) y el seguimiento, control y vigilancia de las actividades productivas. Es indispensable que el plan, asegure la construcción y mantenimiento de obras de infraestructura como muelles, centro de distribución, caminos, escuelas y salas de salud. El mismo deberá garantizar el funcionamiento eficiente del laboratorio de control de toxinas en las aguas y del servicio de la red SENASA, agilizar las habilitaciones de las plantas y el tránsito del producto, como también fomentar el desarrollo del mercado interno y el cuidado del medio ambiente. Adicionalmente debe asegurar programas de capacitación técnica y de acceso a la información y la colaboración con institutos de investigación.

FINANCIAMIENTO A LARGO PLAZO Y APOYO DE LOS GRUPOS ACTIVOS LOCALES

El 90% de los entrevistados del sector artesanal, considera que no reciben apoyo de las administraciones públicas en general y valoran negativamente el accionar del gobierno provincial. En cuanto al sector industrial, si bien los propietarios podrían invertir más dinero en la planta (proveniente de otras actividades), se muestran reticentes a hacerlo porque el comportamiento gubernamental cambiante les genera incertidumbre. La financiación de la inversión inicial de la planta, así como de las posteriores ampliaciones, fue realizada totalmente con recursos propios.

Los mitilicultores demandan al Estado apoyo y promoción de la actividad en general, pero son muy enérgicos los reclamos dirigidos al funcionamiento de los laboratorios de la red de SENASA, en orden a agilizar las habilitaciones y el tránsito de los productos. A su vez, enfatizan sobre la necesidad de los incentivos fiscales y del financiamiento para los productores artesanales, además del otorgamiento de subsidios o ayudas económicas cuando se producen las vedas. Reclaman transparencia en la entrega de permisos, el establecimiento de un marco jurídico adecuado y la mejora en la educación básica y la capacitación específica para la mitilicultura. Los mismos productores sugieren que las autoridades de aplicación implementen programas de formación profesional, asesoramiento, capacitación técnica, acceso a la información (en temas de producción, tecnología y mercados), buenas prácticas para el manejo sanitario, cuidado del

medio ambiente, fomento de las ventas a otras provincias y apoyo para exportar.

En el proceso de consolidación hacia la sostenibilidad deben intervenir los principales actores de la actividad, pero el estado tiene un rol fundamental. La ausencia de una política pública sectorial, debilita la percepción social en torno a la importancia de la actividad, desalienta la inversión privada y limita la articulación entre los interesados para planificar y ejecutar acciones orientadas a la promoción y al desarrollo.

Algunos productores se perciben a sí mismos como rivales y esto les impide u obstaculiza el desarrollo de conductas asociativas y cooperativas. Si bien existen dos Cooperativas de pescadores artesanales, tienen graves conflictos entre si, que no pueden superar: la cooperativa de reciente formación concentra el 90% de los pescadores de Ushuaia y Almanza y su principal objetivo es poder tener una planta, que les permita legalizar el tránsito y comercialización del producto que obtienen; la otra cooperativa tiene unos pocos asociados y según declaran los que no pertenecen a ella, la misma no cumple con ninguna función de cooperación con el sector, sus miembros no son estrictamente artesanales.

Si bien entre los productores y el sector público, hay cierto grado de comunicación, es necesaria la consolidación y la creación de un canal permanente (por ejemplo Comité de Gestión) que favorezca el diálogo para coordinar líneas de acción conjuntas y proyectar a la actividad, así como disminuir los conflictos de intereses resultantes de la informalidad.

CONSOLIDACIÓN Y SOSTENIBILIDAD

Finalmente y teniendo en cuenta la disparidad de opiniones entre el sector público y el sector privado, se aplicó para evaluar la sostenibilidad de la actividad la Tabla de Puntuación *Scorecard*, adaptada para una zona de producción de moluscos bivalvos (Anexo 1). El análisis se enfoca hacia los factores clave para alcanzar la consolidación, identificando los aspectos centrales de un plan de manejo a largo plazo. Cada uno de los 16 indicadores seleccionados por cada criterio, se divide en cinco puntos de referencia, de tal manera que cada uno de los cinco puntos de referencia refleje un nivel similar de progreso en todos los indicadores. Por regla general se considera consolidada una zona de producción de moluscos bivalvos que ha logrado por lo menos una puntuación de “cuatro” en los 16 indicadores. En la Tabla I se observan los puntajes resultantes de toda la información analizada.

Tabla I.- Funcionalidad de un área marina destinada a cultivo, indicadores y puntuación.

Criterios e indicadores	5	4	3	2	1
A. Actividades básicas de protección					
1. Infraestructura física			X		
2. Personal en la zona de producción de moluscos bivalvos			X		
3. Plan de Capacitación para el personal en la zona			X		
4. Tenencia de la parcela marina y predio terrestre		X			
5. Estado de la declaración oficial de zona de producción de moluscos bivalvos	X				
B. Manejo a largo plazo					
1. Análisis de amenazas			X		
2. Parcelación de la zona de producción de moluscos bivalvos		X			
3. Plan de manejo a largo plazo para la zona de producción de moluscos bivalvos.				X	
4. Evaluación de necesidades de ciencias e información				X	
5. Desarrollo y ejecución de un programa de monitoreo			X		
C. Financiamiento a largo plazo					
1. Plan para la autosuficiencia de las organizaciones de interesados					X
2. Plan para el financiamiento a largo plazo de la zona de producción de moluscos bivalvos					X
D. Apoyo de los grupos activos locales					
1. Comité de manejo (CM) y/o comité asesor técnico (CAT) de base amplia					X
2. Participación comunitaria en el uso sostenible de los recursos					X
3. Desarrollo de la agenda política a niveles nacional/regional/local				X	
4. Programas de formación específica y educación ambiental				X	

A grandes rasgos, los niveles se pueden describir de la siguiente manera:

5 = Excelente (está asegurado el manejo apropiado de la zona de producción de moluscos bivalvos);

4 = Suficiente (la zona de producción de moluscos bivalvos está siendo administrada de manera adecuada para la mayor parte de las amenazas y los elementos de conservación de mayor prioridad);

3 = En progreso (la zona de producción de moluscos bivalvos se encamina hacia el logro de un manejo adecuado, pero aún no lo ha alcanzado);

2 = Iniciado el trabajo (se registra poco progreso real hacia el logro del manejo adecuado de la zona de producción de moluscos bivalvos);

1 = No se ha hecho ningún trabajo (la zona de producción de moluscos bivalvos no está siendo administrada en absoluto).

CONCLUSIONES

El cultivo de mejillón en Tierra del Fuego es una alternativa complementaria de desarrollo socio económico para la localidad de Puerto Almanza. El diagnóstico realizado refleja las posibilidades de su crecimiento y la de convertirse en una fuente importante de desarrollo endógeno.

Cuando se analizan las Actividades Básicas de Protección y del Plan de Manejo a largo plazo, puede considerarse que la zona de producción de moluscos bivalvos se encamina hacia el logro de un manejo adecuado, pero aún no lo ha alcanzado.

En cuanto a los aspectos de financiamiento a largo plazo y apoyo de los grupos activos locales, se registra poco progreso real hacia el logro del manejo adecuado de la zona de producción de moluscos bivalvos. Las organizaciones de interesados no tienen elaborado un plan para la autosuficiencia a largo plazo y no participan en el uso sostenible de los recursos. No existe un plan aprobado para el financiamiento a largo plazo de la zona de producción de moluscos bivalvos y no se ha conformado en el ámbito provincial un Comité de manejo o asesor de base amplia.

Se llevan a cabo acciones aisladas, según sea necesario, para impulsar políticas que promuevan la conservación de la zona de cultivo de mejillón, así como actividades de capacitación que incluyen comunicación, formación específica y educación ambiental, con aportes del Consejo Federal de Inversiones y de la Universidad Tecnológica Nacional.

La sostenibilidad de las zonas de cultivo de mejillón no está consolidada y requiere de su planeamiento a largo plazo. El diseño de una política provincial específica y sostenible, debería estar basado en un adecuado entendimiento de las características de la actividad y los principales componentes e interacciones que determinarán su desempeño.

REFERENCIAS

- Bertolotti M.I., Pagani A., Gualdoni P., Errazti E. Cultivo de mejillón en Puerto Almanza, Tierra del fuego, innovación y sostenibilidad. Informe de investigación, INIDEP N° 100/2011
- Fosati J. 2011. Situación de la Acuicultura en Tierra del Fuego. Departamento Acuicultura, Informe N° 55 /11.
- Martin A.S. y Rieger J.F., 2003. El Scorecard para la consolidación de sitios del programa Parques en Peligro Lecciones de áreas protegidas en América Latina y el Caribe-Junio de 2003. http://www.parksinperil.org/files/consolidation_analysis_spa.pdf
- Pagani A., Gualdoni P., Bertolotti M.I, Errazti. E., Fosati J. Situación actual de la mitilicultura en Puerto Almanza, Tierra del Fuego: análisis FODA. *Revista FACES*, 2012. (en prensa)
- Quirós R., Luchini L., Errazti E., Wicki G. 1993. Evaluación e identificación de sitios aptos para desarrollo de la acuicultura; sobre la zona costera de la isla grande de Tierra del Fuego y sus aguas interiores. INFORME FINAL. Volumen I, II y III (385 pp) y mapas adjuntos. Consejo Federal de Inversiones (CFI).
- The Nature Conservancy. 2007. Medición de Logros: Manual de la Tabla de Puntuación (“Scorecard”) para la Consolidación de Sitios. Serie Innovaciones para la Conservación del Programa Parques en Peligro. Arlington, VA, USA: *The Nature Conservancy*. 64 pp.
- The Nature Conservancy, 2003. Medición de Logros: El “Scorecard” de Consolidación (Tabla de Puntuación) de Parques en Peligro. Parques en peligro. http://www.parksinperil.org/files/site_cons_scorecard_old_spa.pdf

ANEXO 1: CRITERIOS Y DEFINICIÓN DEL PUNTO DE REFERENCIA

Categoría	Indicador	Punto de referencia
A. Actividades básicas de protección	1. Infraestructura física <i>Para que una zona de producción de moluscos bivalvos se considere consolidada se debe disponer, como mínimo, de la infraestructura básica necesaria para afrontar las amenazas críticas</i>	5 = Existe toda la infraestructura física necesaria para el manejo básico, según las prioridades establecidas en el plan de manejo de la zona de producción.
		4 = Existe la mayor parte de infraestructura física necesaria para el manejo básico
		3 = Existe alguna infraestructura para el manejo básico, pero hay vacíos considerables
		2 = Existe poca infraestructura para el manejo básico
		1 = No existe infraestructura para el manejo
	2. Personal en la zona de producción de moluscos bivalvos <i>Para considerarse consolidada, una zona de producción de moluscos bivalvos debe contar con la presencia física de suficiente personal en el sitio, en los cargos adecuados, para llevar a cabo las actividades básicas de manejo, seguimiento y control.</i>	5 = La cantidad y las posiciones del personal en el sitio son suficientes para llevar a cabo todas las actividades de manejo planificadas, incluyendo la mitigación de todas las amenazas críticas.
		4 = La cantidad y las posiciones del personal en el sitio son adecuadas para llevar a cabo las actividades básicas de manejo planificadas, incluyendo la mitigación de las amenazas más urgentes.
		3 = El personal en el sitio puede ejecutar algunas actividades de manejo.
		2 = Hay poco personal, algunos integrantes están capacitados para llevar a cabo algunas de las actividades de manejo planificadas.
		1 = No hay personal
	3. Plan de Capacitación para el personal <i>En la zona de producción de moluscos bivalvos consolidada se han identificado las necesidades de capacitación específicas del personal, y se ha impartido alguna capacitación para satisfacer las mismas.</i>	5 = Hay un plan de capacitación sistemático que se enfoca en las aptitudes relacionadas con las amenazas y los elementos de conservación. Se imparte capacitación para cumplir con por lo menos el 80% de las prioridades de capacitación identificadas.
		4 = Hay un plan de capacitación que se enfoca en las aptitudes relacionadas con las amenazas y los elementos de conservación. Se han impartido algunos cursos básicos basados en las prioridades identificadas en el plan.
		3 = Se presentó un plan de capacitación que se enfoca en las aptitudes relacionadas con las amenazas, se han dictado algunos cursos.
		2 = Las necesidades de capacitación están en proceso de identificación, a fin de mejorar las aptitudes necesarias para hacer frente a las amenazas y a los elementos de conservación; todavía no se ha completado el plan de capacitación
		1 = No está disponible, ni se ha desarrollado una evaluación formal de las necesidades de capacitación del personal.
	4. Tenencia de parcelas destinadas a cultivo y predios terrestres <i>En una zona de producción de moluscos bivalvos consolidada, los administradores disponen de la información necesaria sobre el uso de la tenencia de la parcela y predios terrestres, para tomar medidas de manejo que afectan a diferentes tipos de propiedades.</i>	5 = El administrador dispone de información más completa y hace uso de la misma en la toma de decisiones estratégicas.
		4 = El administrador dispone de alguna información y hace uso de la misma
		3 = El administrador dispone de alguna información pero no hace uso de la misma
		2 = Hay acceso inadecuado a la información
		1 = No es posible obtener de ninguna fuente la información necesaria
5. Estado de la declaración oficial una zona de producción de moluscos bivalvos <i>En la zona de producción de moluscos bivalvos consolidada, la autoridad de aplicación y los grupos de apoyo habrán hecho todo lo posible para obtener una norma legal eficaz para el desarrollo sostenible de la zona.</i>	5 = Se obtuvo la declaración oficial de zona de producción de moluscos bivalvos a un nivel apropiado y los límites están correctamente demarcados	
	4 = Se presentó ante las autoridades pertinentes la propuesta para la declaración oficial de una zona de producción de moluscos bivalvos, incluyendo la demarcación correcta de los límites, pero aún no se ha obtenido una declaración	
	3 = Está en preparación la propuesta para la declaración, incluyendo la demarcación correcta de los límites de la zona de producción de moluscos bivalvos.	
	2 = Existe la propuesta para la declaración de una zona de producción de moluscos bivalvos; los límites están demarcados en forma incorrecta	
	1 = No existe norma legal para una zona de producción de moluscos bivalvos	

Categoría	Indicador	Punto de referencia
B. Manejo a largo plazo	1. Análisis de amenazas <i>Para que una zona de producción de moluscos bivalvos se considere consolidada, es necesario identificar las amenazas a su conservación y desarrollar estrategias de manejo ad hoc.</i>	5 = Amenazas identificadas, clasificadas y abordadas a través de acciones de manejo 4 = Amenazas identificadas y priorizadas. Las estrategias específicas para abordar las amenazas prioritarias están en proceso de elaboración. 3 = Análisis de amenazas realizado; aún no se han elaborado estrategias específicas para abordar las amenazas 2 = Análisis de amenazas está en proceso 1 = No existe análisis de amenazas
	2. Parcelación de la zona de producción de moluscos bivalvos <i>Una zona de producción de moluscos bivalvos consolidada tendrá parcelas claramente definidas y distribuidas como resultado de un proceso participativo que incluye a los interesados locales, y los usos reales de las parcelas marinas y de los predios terrestres, estos se ajustarán a las normas previamente establecidas.</i>	5 = Se han definido y clasificado las zonas; se han distribuido las parcelas marinas y los predios terrestres acordes a la actividad, y se cumplen las normas de uso establecidas. 4 = Se han definido y clasificado las zonas; se han distribuido las parcelas marinas y algunos predios terrestres, en su mayoría el uso se ajusta a las normas de uso establecidas 3 = Hay un proceso participativo en progreso para lograr que los patrones de uso de las parcelas marinas y de los predios terrestres, se ajusten a las normas establecidas 2 = Se están llevando a cabo estudios para determinar la asignación de parcelas marinas y predios terrestres 1 = No existe clasificación de zona.
	3. Plan de manejo a largo plazo para la zona de producción de moluscos bivalvos <i>Para considerarse consolidada, la zona de producción de moluscos bivalvos debe tener un plan de manejo que describa y justifique una estrategia de protección y conservación para un mínimo de los siguientes cinco años.</i>	5 = Se ha completado un Plan de manejo para la zona de producción de moluscos bivalvos. Este está siendo implementando y se revisa periódicamente para que refleje las circunstancias cambiantes y la nueva información. 4 = Se ha completado un Plan de manejo para la zona de producción de moluscos bivalvos y los administradores lo están implementando. 3 = Se ha completado un Plan de manejo para la zona de producción de moluscos bivalvos, basado en un análisis de los elementos de conservación prioritarios, las amenazas críticas y los interesados, pero todavía no se lo ha implementado. 2 = Se está preparando un Plan de manejo para la zona de producción de moluscos bivalvos, basado en un análisis de los elementos de conservación prioritarios, las amenazas críticas y los interesados 1 = Todavía no existe un Plan de manejo para la zona de producción de moluscos bivalvos, basado en un análisis de los elementos de conservación prioritarios, las amenazas críticas y los interesados.
	4. Evaluación de necesidades de ciencias e información <i>En una zona de producción de moluscos bivalvos consolidada, se han identificado sistemáticamente tanto los elementos de conservación como las necesidades científicas y de información requeridas para el manejo eficaz, y se han iniciado contactos y acciones con organizaciones apropiadas que disponen de la capacidad para abordar estas necesidades.</i>	5= Organizaciones científicas y de investigación, así como científicos e investigadores, trabajan en conjunto con la autoridad de aplicación para abordar las necesidades científicas y de información de la misma. 4= Se han identificado, clasificado y distribuido las necesidades científicas/ de información; se han establecido contactos con organizaciones científicas y de investigación para abordar estas necesidades. 3= Las necesidades científicas y de información se encuentran en proceso de identificación y clasificación como parte del Plan de manejo u otro análisis basado en amenazas. 2 = Se conoce, en términos generales, las necesidades científicas y de información, pero no en el contexto de un análisis formal tal como el necesario para un Plan de Manejo u otro análisis basado en amenazas. 1 = Las necesidades científicas y de información son desconocidas
	5. Desarrollo y ejecución del programa de monitoreo <i>Para considerarse consolidado, una zona de producción de moluscos bivalvos debe tener un plan de monitoreo completo y su ejecución debe garantizar el seguimiento de la amenazas críticas principales.</i>	5=Se ha concluido y se ejecuta regularmente el plan de monitoreo. Disponibilidad oportuna de información y análisis de monitoreo, utilizados por la autoridad de aplicación con propósitos de manejo 4 = Se ha concluido el plan de monitoreo; se realiza el seguimiento de las variables relacionadas con los elementos de conservación prioritarios y las amenazas críticas. 3 = Se identificaron variables de monitoreo precisas y relacionadas con las amenazas, se recabó y clasificó la información básica, pero no se ha concluido el plan de monitoreo. 2 = Se recolectó alguna información básica, pero sin una relación clara con las principales amenazas 1 = No se lleva a cabo ningún monitoreo ambiental relevante

Categoría	Indicador	Punto de referencia
C. Financiamiento a largo plazo	1. Plan para la autosuficiencia de los interesados (Asociaciones, Cooperativas, etc.) <i>Una zona de producción de moluscos bivalvos consolidada contará con el apoyo de las organizaciones de interesados que hayan desarrollado y ejecutado una estrategia para alcanzar su propia autosuficiencia económica.</i>	5 = la organización de interesados está implementando plenamente un plan para alcanzar la autosuficiencia operativa y los resultados corresponden aproximadamente a las metas establecidas. 4 = la organización de interesados ha completado un plan de autosuficiencia operativa y ha iniciado la ejecución y el monitoreo de los resultados 3 = la organización de interesados está completando un plan de autosuficiencia operativa. 2 = la organización de interesados está iniciando un plan de autosuficiencia operativa 1 = la organización de interesados carece de un plan para alcanzar la autosuficiencia operativa
	2. Plan para el financiamiento a largo plazo de una zona de producción de moluscos bivalvos <i>Para que una zona de producción de moluscos bivalvos se considere consolidada, debe haber completado un plan financiero e iniciado la ejecución de medidas para encontrar fuentes recurrentes y/o sostenibles de financiamiento.</i>	5 = Se ha completado el plan financiero a largo plazo; se dispone de un portafolio diversificado de fuentes de financiamiento y mecanismos para cubrir los costos de manejo básico de la zona y se cuenta con financiamiento identificado para los próximos dos a cinco años. 4 = Se ha completado el plan financiero a largo plazo; se están ejecutando fuentes y mecanismos recurrentes y/o sostenibles para cubrir los costos de manejo básico de la zona. Se cuenta con financiamiento suficiente para cubrir los costos de manejo básico para el próximo año fiscal. 3 = Se ha completado el borrador del plan financiero; se han identificado fuentes y mecanismos recurrentes y/o sostenibles para cubrir los costos de manejo básico de la zona. 2 = Hay una planificación financiera en progreso 1 = No hay indicios de una planificación financiera ni de la diversificación de fuentes de financiamiento

Categoría	Indicador	Punto de referencia
D. Apoyo de los grupos activos locales	1. Comité de manejo (CM) y/o comité asesor técnico (CAT) de base amplia <i>Para que una zona de producción de moluscos bivalvos se considere consolidada, se debe haber formado un comité consultivo o de manejo que esté integrado por los principales interesados y que participe en las decisiones de manejo.</i>	5 = El comité asesor se reúne regularmente y es un participante activo en las decisiones de manejo
		4 = El comité asesor incluye a los principales interesados y ocasionalmente participa en decisiones de manejo
		3 = Se ha formado un comité de manejo o un comité técnico asesor basado en un análisis completo de los actores interesados.
		2 = El comité de manejo o comité técnico asesor se encuentra en proceso de integración; se está realizando un análisis de los interesados
		1 = El comité de manejo o comité técnico asesor es inexistente.
	2. Participación comunitaria en el uso sostenible de los recursos <i>En una zona de producción de moluscos bivalvo consolidada, los principales actores participan en proyectos piloto para el uso sostenible de los recursos locales, y estos proyectos piloto se documentan de tal manera que pueden reproducirse en otras partes.</i>	5 = Hay proyectos piloto bien documentados para el uso sostenible de los recursos locales que se emprenden en cooperación con importantes organizaciones comunitarias
		4 = Los proyectos piloto bien documentados para el uso sostenible de los recursos locales incluyen a las organizaciones comunitarias (u otros interesados importantes)
		3 = Los proyectos piloto para el uso sostenible de los recursos locales incluyen a comunidades o residentes individuales; la documentación de los resultados del proyecto se encuentra en elaboración
		2 = El desarrollo de proyectos piloto para el uso sostenible de los recursos locales está en proceso, pero no se incluye a las comunidades
		1 = No se está trabajando en el desarrollo de proyectos piloto para el uso sostenible de los recursos locales.
	3. Desarrollo de la agenda política a niveles nacional/regional/local <i>Se han identificado las políticas necesarias para apoyar la seguridad a largo plazo de la zona de producción de moluscos bivalvos y se implementa un plan para promover las mismas.</i>	5 = El plan o agenda política prioriza los cambios de políticas necesarios para apoyar la conservación y toma en cuenta los elementos prioritarios y las amenazas críticas. Además, se implementan las estrategias recomendadas en el plan, con cierto éxito en cuánto al cambio de políticas o a la implementación de nuevas políticas.
		4 = El plan o agenda política prioriza los cambios de políticas necesarios para apoyar la conservación y toma en cuenta los elementos prioritarios y las amenazas críticas.
		3 = Se ha completado un plan o agenda política con el fin de asegurar políticas de conservación apropiadas
		2 = No se ha desarrollado un plan o agenda política formal para promover políticas de conservación apropiadas. Sin embargo, se llevan a cabo acciones puntuales según sea necesario para impulsar políticas que promuevan la conservación de la zona
		1 = No se ha realizado ninguna acción para desarrollar o promover políticas de conservación.
	4. Programas de comunicación, formación específica (en buenas prácticas productivas) y educación ambiental. <i>Para que una zona de producción de moluscos bivalvos se considere consolidada, debe tener programas establecidos de comunicación, formación específica en buenas prácticas productivas y educación ambiental.</i>	5 = Es posible establecer un impacto positivo de los programas de formación específica y educación ambiental
		4 = Hay programas establecidos de comunicación, formación específica y de educación ambiental, pero no se ha concluido la evaluación formal del impacto
		3 = Se están realizando programas de comunicación, formación específica y de educación ambiental
		2 = Se están desarrollando programas de comunicación, formación específica y de educación ambiental.
		1 = No se están desarrollando programas de comunicación, formación específica y de educación ambiental.

Caracterización de la calidad de la ostra portuguesa *Crassostrea angulata* y la ostra del pacífico *Crassostrea gigas*

**Sáez¹ M.I., Oliveira² M., Serra² S., Venegas¹ E., Martínez¹ T.F., Suarez¹ M.D.,
Bandarra² N.M., Ruano² F., Batista² F.M., Grade² A., Gonçalves² A.**

¹Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería. España.

²División de Aquicultura e Valorização, Departamento Mar e Recursos Marinhos, Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P (IPMA), Lisboa. Portugal.

mabelsaezcasado@ual.es

RESUMEN

Las ostras se caracterizan por ser productos muy apreciados por los consumidores, obteniendo un elevado valor comercial y con gran importancia en el mercado europeo. Por lo tanto, los atributos de calidad pueden ser de suma importancia ya que su tipificación es clave para caracterización de su calidad comercial. El objetivo principal de este trabajo fue la evaluación de la composición química y las características sensoriales de la especie más producida en Europa *Crassostrea gigas*, y su comparación con la ostra portuguesa *Crassostrea angulata*.

Se utilizaron ejemplares de *C. gigas* y *C. angulata* cultivados en el Algarve y recolectados en marzo de 2012. En estas muestras se determinaron parámetros biométricos (índice de condición, % tejido blando y estado de maduración); composición proximal (humedad, cenizas, lípidos totales, proteína, glucogeno) y perfil de ácidos grasos. También se realizó un análisis sensorial descriptivo de las ostras sometidas a vapor durante 2 minutos mediante un panel formado por 10 catadores entrenados con experiencia en el uso de escalas de

respuesta en pescado y moluscos. Los atributos medidos fueron: color, olor, sabor, textura (firmeza y succulencia) y “aftertaste” o retrogusto.

Los resultados evidenciaron que ambas especies mostraron un estado de maduración similar (estadio 0: reposo). Los índices de condición y tejido blando fueron similares para las dos especies. El perfil de ácidos grasos para *C. gigas* y *C. angulata* fue similar, observándose elevados contenidos de PUFA *n*-3. La evaluación sensorial descriptiva no mostró diferencias significativas entre las dos especies.

Se ha encontrado ciertas similitudes en el perfil sensorial de las ostras estudiadas, si bien el olor y la textura pueden ser los atributos que mejor distinguen a estas dos especies. Además ambas especies poseen un contenido elevado de ácidos grasos poliinsaturados, buena proporción de lípidos beneficiosos para la salud incluyendo los ácidos grasos de la serie *n*-3.

PALABRAS CLAVE

Crassostrea angulata, *Crassostrea gigas*, análisis sensorial, ácidos grasos.

INTRODUCCIÓN

En 2010, la producción de moluscos representó el 18% de la acuicultura mundial, siendo las ostras el grupo de mayor producción (32%), a pesar que en Europa está por debajo de la producción de mejillón (FAO, 2012). Los principales productores de ostra a nivel mundial son China, Corea de Sur y Japón. En la Unión Europea destacan Francia, Irlanda, España y Portugal. La principal especie producida es la ostra pacífica (*Crassostrea gigas*, Thunberg, 1793), que ocupa la 5ª posición en especies de acuicultura en importancia mundial (APROMAR, 2012). Esta especie fue introducida como alternativa a la ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*, Lamarck, 1819), para compensar las considerables pérdidas por mortalidad en los cultivos comerciales a partir de los años 70s. No obstante, existen todavía poblaciones de *C. angulata*, localizadas en la Península Ibérica. También, *C. angulata* es una de las principales especies producidas en Taiwan (Boudry *et al.*, 1998) y en otras regiones de Asia (Lapègue *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2007). En este contexto, un conocimiento más profundo sobre los parámetros de calidad de las poblaciones remanentes de *C. angulata* comparado con *C. gigas* puede ser interesante desde el punto de vista de las futuras tendencias de cultivo.

Además, la valorización de *C. angulata* puede contribuir a la preservación del resto de poblaciones de esta especie que se encuentran en peligro por la expansión del *C. gigas* (Batista, 2007).

Las ostras se caracterizan por ser productos con propiedades sensoriales muy apreciadas por los consumidores, siendo productos de elevado valor comercial. Por lo tanto los atributos de calidad (forma de la concha, color y sabor de la carne,) pueden ser de suma importancia (Mahon, 1983; Ward *et al.*, 2005) ya que su tipificación es clave para caracterización de su calidad comercial. Así mismo son una fuente de ácidos grasos omega 3, principalmente ácido eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) y docosahexanoico (22:6 n-3, DHA) (Martino y Da Cruz, 2004; Parinseti *et al.*, 2010), cuyo consumo está asociado a la prevención de muchas enfermedades cardiovasculares (Barceló-Coblíjn *et al.*, 2009; Gebauer *et al.*, 2006). A pesar de su elevado valor económico y de su importancia en el mercado europeo hay pocos datos cualitativos que caractericen la calidad de las ostras.

El objetivo de este trabajo fue comparar la composición química y características sensoriales de dos especies de ostras más importantes del sur de Europa (*C. gigas* y *C. angulata*), cultivadas en condiciones similares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Individuos adultos de *C. angulata* fueron capturados en Monte-da-Pedra, Rio Sado (Setúbal, Portugal). Para la especie *C. Gigas*, se obtuvieron individuos adultos de un productor de Ria Formosa (Algarve, Portugal). Una muestra de dos individuos de cada especie fueron analizados con marcadores moleculares tal y como describe Batista (2007), con el fin de confirmar la especie. Los ejemplares de las especies *C. gigas* y *C. angulata* fueron cultivados en Ria Formosa (Algarve) con unas condiciones de temperatura y salinidad de aproximadamente 19°C e 36 ppt, respectivamente. Se tomaron muestras de ostras vivas de tamaño comercial de cada una de las dos especies en el mes de marzo de 2012 y se trasladaron en condiciones de refrigeración al laboratorio de Division de Aquacultura e Valorização, Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P (IPMA,) en Lisboa. A su llegada, se lavaron las conchas y se procedió a la determinación de los diversos parámetros analíticos. De cada uno de los ejemplares muestreados se registró el estado de maduración sexual y se determinaron las medidas de longitud dorsal, ventral, espesor y el peso vivo total, empleando un calibre con una precisión de 0,1 mm y una balanza con una precisión de 0,01 g. El estado de maduración se determinó por los métodos Xie y Burnell (Matias, 1995) y Hesselman *et*

al., (Matias, 1995), clasificándose en una escala de 6 categorías (0-5, donde 0 corresponde a inactividad y 5 a post-desove). A partir de las medidas realizadas se determinó el índice de condición [$IC=1000 \times (\text{peso seco tejido blando (g)} / \text{vol. cavidad intervalvar (ml)})$] según el método de Lawrence Scott (1982), y el % de tejido blando [$100 \times \text{peso fresco del tejido blando (vianda)}/\text{peso fresco total}$].

Para la realización de los análisis de composición proximal y el perfil de ácidos grasos, se utilizaron muestras de 2 pools de cada especie (cada pool fue constituida por la parte blanda de 10 individuos), que se liofilizaron, trituraron y se conservaron a -80°C hasta su posterior uso. Los análisis de humedad, ceniza y proteína se realizaron de acuerdo con AOAC (2000). El contenido de glucógeno fue determinado según el método Viles y Silverman (1949). El total de lípidos fue extraído por el método Folch *et al.* (1957). La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó según el procedimiento experimental de Bandarra *et al.* (2009). Todas las determinaciones se hicieron en duplicado para cada pool.

La evaluación sensorial fue realizada en una sala específica de análisis sensorial, con un área de preparación de muestras físicamente separada del área de validación, con aire acondicionado y gabinetes individuales de prueba, equipado con una lámpara fluorescente de luz blanca, agua y una piletta. Se utilizó un panel de evaluadores, formado por diez miembros, de ambos sexos, no fumadores, con edades comprendidas entre los 34-60 años, consumidores frecuentes de este producto, seleccionado por sus habilidades en la percepción de sabores básicos y experiencia en el uso de escalas de respuesta en pescado y moluscos. Las ostras se cocinaron en un horno a vapor (Rational CombiMaster CM6 Cross Kuchentechnik GmbH, Landsberg Lech, Germany), con una temperatura de 100°C durante 2 minutos. Las muestras se presentaron siempre codificadas en platos blancos. Se determinó la intensidad de los atributos de las muestras a través de una escala lineal de respuesta de 12cm, donde 0 representa la ausencia del atributo y 12 una percepción muy fuerte del atributo. Los atributos estudiados fueron: sabor, color, olor, textura (firmeza y succulencia) y sabor en boca (retrogusto).

Los resultados fueron analizados a partir del análisis estadístico t-Student con el paquete estadístico STATISTICA versión 6.1 (Stat Soft. Inc., Tulsa, OK 74104, USA). La significación estadística se fijó en $P < 0,05$.

RESULTADOS

Los resultados evidenciaron que las dos especies evaluadas se encontraban en su mayoría

(60 a 64%) en estado 0 de maduración sexual, reposo -con completa o casi completa ausencia de gametos. Los restantes se encontraban en estado 5, pos desove -con los folículos sexuales vacíos y contraídos, con algunos gametos en su lumen y en los canales germinales.

Con respecto a los valores del índice de condición y el % de tejido blando mostrados en la Tabla I, se observaron algunas diferencias entre las dos especies siendo estas diferencias estadísticamente significativas apenas en el índice de condición (IC). Los valores medios de composición tampoco mostraron diferencias significativas entre los dos grupos de ostras analizadas.

Tabla I.- Índices biométricos (%) y composición proximal (% peso fresco) de las especies de ostra *C. gigas* y *C. angulata*. (media \pm sd. n=2).

	<i>C. gigas</i>	<i>C. angulata</i>	<i>p</i>
¹ IC	19,2 \pm 0,6 ^a	15,1 \pm 0,4 ^b	0,0090
² TB	18,3 \pm 0,4	15,5 \pm 1,6	0,1459
Proteína	9,9 \pm 0,3	8,3 \pm 1,7	0,3041
Lípidos totales	2,6 \pm 0,2	2,8 \pm 0,2	0,5206
Glucogeno	6,5 \pm 1,6	6,5 \pm 0,5	0,9951
Humedad	79,0 \pm 1,5	79,7 \pm 2,3	0,7530
Ceniza	1,95 \pm 0,11	2,37 \pm 0,15	0,0866

¹IC: Índice de Condición: IC=100 x (peso seco (g) / vol. cavidad intervalvar (ml)].

²TB. % de tejido blando [100 x peso fresco del tejido blando (vianda)/peso fresco total].

El perfil de ácidos grasos de *C. gigas* y *C. angulata*, se muestra en la Tabla II. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) fueron los más abundantes representando cerca de 50% do total de ácidos grasos en la dos especies. Destaca-se el elevado contenido en PUFAs *n*-3 de ambas especies, representando el 87% de total de PUFAs. Dentro de los PUFAs *n*-3 destacaron para ambas especies los ácidos grasos EPA (16 y 17 %) y DHA (12%). Los PUFAs *n*-6 mostraron valores similares para ambas especies, representando aproximadamente 6%, siendo mayoritario el 18:2*n*-6, con un 2,7%. La relación *n*-3 / *n*-6 fue próximo de 7 en ambas as especies.

Tabla II .- Perfil de ácidos grasos (% de ácidos grasos totales) de las especies de ostra *C. gigas* y *C. angulata*. (media \pm sd. n=2).

AG (%)	<i>C. gigas</i>	<i>C. angulata</i>	p
14:0	2,8 \pm 0,1	2,8 \pm 0,0	0,6957
16:0	20,6 \pm 0,0	20,1 \pm 0,4	0,1612
18:0	4,0 \pm 0,1 ^a	4,6 \pm 0,2 ^b	0,0026
SSFAs ¹	27,4 \pm 0,1	27,5 \pm 0,6	0,8266
16:1n-7	2,5 \pm 0,1	2,5 \pm 0,1	0,7411
18:1n-9	4,7 \pm 0,1 ^a	4,4 \pm 0,1 ^b	0,0326
18:1n-7	4,9 \pm 0,1	4,7 \pm 0,0	0,1487
20:1n-9	2,2 \pm 0,0 ^a	1,4 \pm 0,0 ^b	0,0002
20:1n-7	2,7 \pm 0,0	2,7 \pm 0,2	0,9693
SMUFAs ²	16,9 \pm 0,3 ^a	15,6 \pm 0,4 ^b	0,0234
16:4n-3	3,6 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	0,0969
18:2n-6	2,7 \pm 0,0	2,7 \pm 0,1	0,6970
18:3n-3	3,7 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2	0,8406
18:4n-3	5,1 \pm 0,2	5,1 \pm 0,2	0,9109
20:4n-6	2,1 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	0,2787
20:5n-3	17,2 \pm 0,5 ^a	16,0 \pm 0,5 ^b	0,0098
22:6n-3	12,1 \pm 0,2	11,7 \pm 0,1	0,0803
Σ PUFAs ³	46,5 \pm 0,0 ^a	45,0 \pm 0,4 ^b	0,0287
Σ PUFAs n-3	41,7 \pm 0,0 ^a	40,3 \pm 0,3 ^b	0,0253
Σ PUFAs n-6	4,8 \pm 0,0	4,7 \pm 0,1	0,0973
n-3/n-6	6,7 \pm 0,1	6,6 \pm 0,0	0,0500
Otros	9,1 \pm 0,1	11,8 \pm 0,0	0,0680

¹Ácidos grasos saturados, ²Ácidos grasos monoinsaturados, ³Ácidos grasos polinsaturados

La evaluación sensorial descriptiva permitió la cuantificación de descriptores a través de perfiles sensoriales, caracterizando los atributos presentes (Figura 1). Cabe destacar que, *C. gigas* fue caracterizada con un olor a mar un poco más destacado y una mejor textura, definida por los parámetros firmeza y succulencia; pero estas diferencias sin significancia estadística.

En cuanto al sabor a mar-salado, color crema-marfil y el retrogusto, ambas especies obtuvieron resultados casi idénticos.

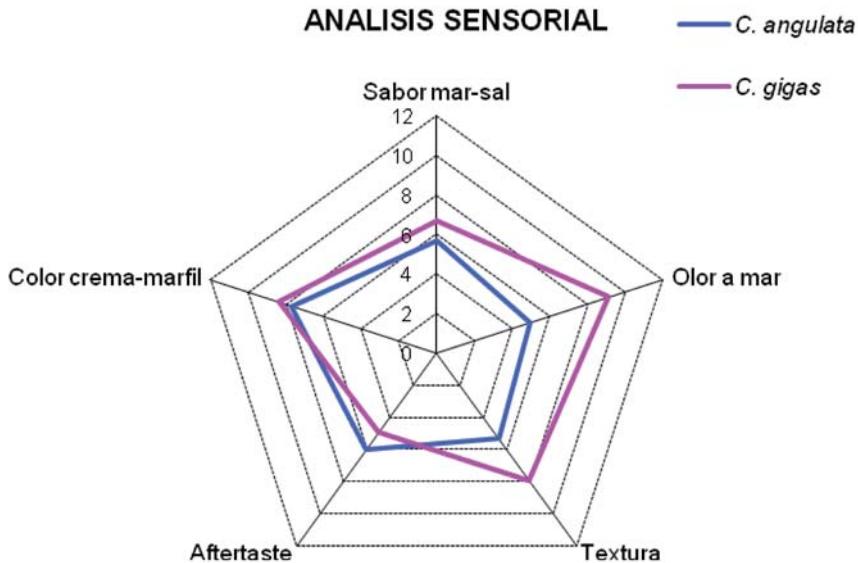


Figura 1.- Diferencias de intensidad de los principales atributos sensoriales entre las especies de ostra *C. gigas* y *C. angulata*.

DISCUSIÓN

Uno de los índices más utilizados para la determinación de la calidad de las ostras es el índice de condición, que expresa la relación entre el peso seco de la carne y el volumen de la cavidad interna de la concha, siendo un indicador primario de crecimiento de la ostra, la cual utiliza el volumen disponible para su crecimiento (Haven, 1961). Los factores que influyen sobre el IC de las ostras son fundamentalmente el ciclo gametogénico, seguido por la disponibilidad de alimento (Boscolo *et al.*, 2003). La pequeña diferencia observada en nuestros valores para este índice posiblemente estará en concordancia con el hecho de que los dos grupos de ostras se cultivaron en las mismas condiciones y que su estado de maduración fue similar.

Los valores medios de composición proximal obtenidos fueron similares entre las dos especies y a su vez a los encontrados por Linehan *et al.* (1999) en muestras de *C. gigas* y Chem (2011) en *C. virginica* cultivadas en condiciones similares. Martino y Cruz en *C. rhizophorae*, mostraron un menor contenido en glucógeno ($\leq 4\%$) pero los demás parámetros fueron muy parecidos a los encontrados en este trabajo. La ostra es un producto caracterizado por poseer un bajo contenido lipídico ($<3\%$) (Parenseti *et al.*, 2010), dentro de los cuales la mayor proporción es de ácidos grasos de la serie *n*3, beneficiosos para la salud (Lombardo y Chicco, 2006). Los valores medios de contenido lipídico fueron similares a los encontrados por Linehan *et al.* (1999) en muestras de *C. gigas* y de Chem (2011) en *C. virginica* cultivadas en condiciones similares.

En cuanto al perfil de ácidos grasos de las dos especies, los ácidos grasos 16:0, 18:1, 20:5*n*-3 (EPA) y 22:6 *n*-3 (DHA) fueron predominantes como saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente, al igual que en otros trabajos de ostras cultivadas en diferentes regiones (Childs *et al.*, 1990; Linehan *et al.*, 1999; Martino y Da Cruz, 2004; Parinseti *et al.*, 2010). En especies marinas, es común observar un contenido importante en ácido palmítico (16:0), ácido graso clave en procesos metabólicos (Ackman y Eaton, 1966) y de PUFAs (Yildiz *et al.*, 2006) atribuible a la prevalencia de estos ácidos grasos en alimentos de origen marino (Sargent *et al.*, 1999). Dentro de estos últimos, EPA y DHA tienen un papel nutritivo importante en la dieta. Diversos estudios han demostrado que entran a formar parte de determinadas rutas metabólicas que dan a lugar a prostaglandinas y leucotrienos, los cuáles desempeñan diferentes funciones en el desarrollo de algunos estados patológicos. Las ostras presentan una buena proporción de PUFAs *n*-3 en relación con el total de ácidos grasos (43%). Los valores obtenidos en nuestro experimento fueron superiores a los encontrados en diferentes especies de ostras cultivadas por Martino y Da Cruz (2004) con *C. rhizophorae* y Parinseti *et al.* (2010) con *C. gigas*.

La relación *n*-3 / *n*-6 se ha utilizado de forma frecuente como índice de calidad de los lípidos; en nuestro experimento ha mostrado valores altos (cerca de 7 en las dos especies) cuando se comparan con los obtenidos por Martino y Da Cruz (2004) en *C. gigas*.

Son muy escasos los análisis sensoriales realizados en moluscos (mejillón, Gökoglu, 2002 y Erkam, 2005; almeja, Gonçalves *et al.*, 2009). Recientemente, se ha realizado un estudio con ostras crudas de la especie con *C. virginica* (Chem, 2011) con el fin de analizar diferencias sensoriales asociadas a diferentes zonas de cultivo, Los atributos analizados fueron similares a los realizados en nuestro trabajo: apariencia, aroma, flavor y textura. En este caso si se observaron diferencias en los atributos apariencia y flavor asociados principalmente a las diferentes zonas de cultivo. En nuestro trabajo, los caracteres sensoriales evaluados en las dos especies reflejaron una similitud en las características sensoriales que

puede estar determinada por la composición proximal, en particular glucógeno, y lípidos, factores estrechamente relacionados con estado de maduración y las condiciones ambientales y nutricionales de los cultivos.

CONCLUSIONES

Se ha encontrado ciertas similitudes en el perfil sensorial de las ostras estudiadas, si bien el olor y la textura pueden ser los atributos que mejor distinguen a estas dos especies. Además ambas especies poseen un contenido elevado de ácidos grasos poliinsaturados, buena proporción de lípidos beneficiosos para la salud incluyendo los ácidos grasos de la serie $n-3$.

AGRADECIMIENTOS


M.I. Sáez posee una beca predoctoral de la Universidad de Almería y ha realizado una estancia de investigación en el laboratorio de División de Aquicultura e Valorização, Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P (IPMA,) en Lisboa, Portugal. Gracias a Oksana Radelytska por su apoyo en todos los análisis.

REFERENCIAS

- Ackman R.G., Eaton C.A. 1966. Some comercial Atlantic herring oils; fatty acid composition. *Journal Fish. Res. Bd. Can.* 23, 991-1006.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaitherburg, MD, USA.
- APROMAR 2012. *La acuicultura marina en España 2012*. Disponible en la web: www.apromar.es
- Bandarra N.M., Batista I., Nunes M.L. 2009. Chemical composition and nutritional value of raw and cooked black scabbardfish (*Aphanopus carbo*). *Scientia Marina* 73S2: 105-113.
- Barceló-Coblijn. G., Murphy., E.J. 2009. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer

- chain n-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Prog. Lipid. Res.* 48, 355-74.
- Batista F.M. 2007. Assessment of the aquacultural potential of the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. Tesis de Doctoramiento. Universidad do Porto.
- Boscolo R., Cornelio M., Giovanardi O. 2003. Condition index and air survival time to compare three kinds of Manila clam *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve) farming systems. *Aquacult. Int.* 11: 243–254.
- Boudry P., Heurtebise S., Collet B., Cornette F., Gerard G. 1998. Differentiation between populations of the Portuguese oyster. *Crassostrea angulata* (Lamarck) and the Pacific oyster. *Crassostrea gigas* (Thunberg), revealed by mtDNA RFLP analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 226: 279-291.
- Chem L. 2011. Sensory and Chemical Characteristics of Eastern Oysters (*Crassostrea virginica*). Tesis Master of Science in Life Science. Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Childs *et al.*, 1990. Effects of shellfish consumption on lipoproteins in normolipidemic men. *American Journal of Clinical Nutrition* 51: 1020-1027.
- Erkan, N; Özden, Ö, Ulusoy, S. 2011. Seasonal Micro- and Macro-Mineral Profile and Proximate Composition of Oyster (*Ostrea edulis*) Analyzed by ICP-MS. *Food Anal. Methods* 4: 35–40.
- FAO 2012. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Disponible en la web: www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s.pdf
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- Gebauer S.K., Psota T.L., Harris W.S., Kris-Etherton P.M. 2006. n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *American Journal of Clinical Nutrition* 83: 1526–1535.
- Gökoglu, N. 2002. A descriptive method for sensory evaluation of mussels. *Lebenson Wiss Technol* 35: 563-567
- Gonçalves A., Pedro S., Duarte A., Nunes M.E. 2009. Effect of enriched oxygen atmosphere storage on the quality of live clams (*Ruditapes decussatus*). *International Journal of Food Science and*
- Haven D. 1961. Seasonal cycle of condition index of oysters in the York and Rappahannock Rivers. *Proc. Natl. Shellfish. Assoc.* 52:42-66.
- Lapegue S., Batista F.M., Heurtebise S., Yu Z., Boudry P. 2004. Evidence for the presence of the Portuguese oyster. *Crassostrea angulata*, in Northern China. *J. Shellfish Res.* 23, 759-763.

- Lawrence, D.R., Scott, G.I. 1982. The determination and use of condition index of oysters. *Estuaries* 5: 23-27.
- Linehan L.G., O'Connor T.P., Burnell G. 1999. Seasonal variation in the chemical composition and fatty acid profile of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Food Chemistry* 64: 211-214.
- Lombardo Y.B., Chicco A.G. 2006. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *Journal of Nutritional Biochemistry* 17: 1-13,
- Mahon G.A.T. 1983. Selection goals in oysters breeding. *Aquaculture* 33: 141-148.
- Martino C.R., Cruz G.M. 2004. Proximate Composition and Fatty Acid Content of the Mangrove Oyster *Crassostrea rhizophorae* Along the Year Seasons. Brazilian *Archives of Biology and Technology* 47: 955-960.
- Matias E.R. 1997. Caracterização da ostreicultura no Estuário do Sado. Relatório final de Licenciatura em Biologia Aplicada aos Recursos Animais Marinhos. Universidad de Lisboa.
- Parisenti, J., Tramonte, V.L., Arellano, D. 2010. Composição de esteróis e ácidos graxos de ostras (*Crassostrea gigas*) cultivadas em Florianópolis – SC, em duas estações do ano. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 30(Supl.1): 73-76.
- Sargent J., Bell G., McEvoy L., Tocher D., Estévez A. 1999. Recent development in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177: 191-199.
- Viles P., Silverman J. 1949. Determination of starch and cellulose with anthrone. *Analytical Chemistry* 21: 950-953.
- Wang L., Wang H., Guo X. 2007. Microsatellite polymorphism and genetic diversity in populations of Pacific oyster *Crassostrea gigas* and Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. *Aquaculture* 2007. World Aquaculture Society. San Antonio, Texas, USA, February 26- March 2, 622.
- Ward R.D., Thompson P.A., Appleyard S.A., Kube P.D. 2005. Sustainable genetic improvement of Pacific oysters in Tasmania and South Australia. CSIRO. Fisheries Research Development. 193p.
- Yildiz M., PENER E., Seyin H.G.N., 2006. Effect of Refrigerated Storage on Fillet Lipid Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) Fed a Diet Containing Different Levels of DL α -Tocopherol Acetate. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 30: 143-150.



Caracterización de la calidad de la ostra portuguesa *Crassostrea angulata* y la ostra del pacífico *Crassostrea gigas*



Sáez, M. I.¹, Oliveira, M.³, Serra, S.³, Venegas, E.², Martínez, T. F.¹, Suárez, M. D.¹, Bandarra, N. M.³, Ruano, F.³, Batista, F. M.³, Grade, A.³, Gonçalves, A.³

¹Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería, España. mabelsoezcasado@ual.es
²Departamento de Hidrogeología y Química Analítica, Universidad de Almería, España.
³Departamento Mar e Recursos Marinhos, Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P. (IPMA).

JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la especie predominante en la producción de ostras en Europa es *Crassostrea gigas*. En el caso de la ostricultura portuguesa, esta especie sustituyó casi por completo a la ostra portuguesa (*C. angulata*), debido su alta mortalidad. No obstante, existen todavía poblaciones de *C. angulata* localizadas en el Sur de Europa. Las ostras se caracterizan por ser productos muy apreciados por los consumidores, obteniendo un elevado valor comercial y con gran importancia en el mercado europeo. Por lo tanto, los atributos de calidad pueden ser de suma importancia ya que su tipificación es clave para caracterización de su calidad comercial. El objetivo principal de este trabajo fue la evaluación de la composición química y las características sensoriales de la especie más producida en Europa *Crassostrea gigas*, y su comparación con la ostra portuguesa *Crassostrea angulata*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ejemplares cultivados en el Algarve y recolectados en Marzo de 2012

Parámetros biométricos: índice de condición, IC (Lawrence Scott, 1982); % tejido blando, TB, y estado de maduración (Matas, 1995)

Composición proximal: humedad, ceniza y proteína (AOAC, 2000) lípidos totales, (Folk, 1957) y glucógeno (Viles y Silverman, 1949)

Perfil de Ácidos Grasos (Bandarra et al., 2009)

Análisis Sensorial descriptiva: ostras cocidas al vapor, a través de una escala lineal 12 cm, 10 caladores experimentados.

Color
Olor
Sabor
Textura
Atertaste

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados evidenciaron que ambas especies se encontraban en el mismo estado de maduración (estado 0: reposo). Los índices de condición y tejido y los valores medios de composición fueron similares para las dos especies (Tabla 1). También se observó similitud en los perfiles de ácidos grasos, observándose en ambos un contenido elevado de ácidos grasos polinsaturados, superior en *C. gigas*, principalmente de la serie n-3 muy beneficiosos para la salud (Figura 1). La evaluación sensorial descriptiva tampoco mostró diferencias significativas entre las dos especies, si bien el olor y la textura pueden ser los atributos que mejor las distinguen (Figura 2).

Tabla 1. Índices biométricos (%) y composición proximal (%) peso fresco de las variedades de ostra *C. gigas* y *C. angulata*.


	<i>C. gigas</i>	<i>C. angulata</i>	p
IC	19,2 ± 0,6*	15,1 ± 0,6*	0,0090
TB	18,3 ± 0,4	15,5 ± 1,6	0,1439
Proteína	9,9 ± 0,3	8,3 ± 1,7	0,3047
Lípidos totales	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,2	0,5266
Glucógeno	6,5 ± 1,6	6,5 ± 0,5	0,9921
Humedad	79,0 ± 1,5	79,7 ± 2,3	0,7230
Ceniza	1,95 ± 0,11	2,37 ± 0,15	0,0866

* IC=100 x (peso seco [g] / vol. Cavi. Intersticial [ml]).
 TB= 100 x peso fresco del tejido blando [pesado] / peso fresco total



* Diferencias significativas (P < 0,05) entre biométricos.

Figura 1. Perfil de ácidos grasos (% de ácidos grasos totales) de *C. gigas* y *C. angulata*.



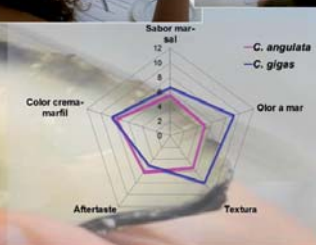


Figura 2. Diferencias de intensidad de los principales atributos sensoriales de *C. gigas* y *C. angulata*.

REFERENCIAS

AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000). Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA.

Bandarra, N. M., Batista, I., Serra, S. L., 2009. Chemical composition and nutritional value of raw and cooked black scallops (*Liparis arboris*). *Marine Biology*, 152(2): 105-113.

Folk, J., Lee, R., Hesse-Stackey, D.R., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-500.

Lawrence, D. R. y Scott, G. I., 1982. The determination and use of condition index of oysters. *Estuaries*, vol 5 nº 1, 23-27.

Matas, F. R., 1997. Caracterización de variedades en Estreito do Sado. Relatório Final do Licenciatura em Biologia Aplicada em Oceanografia Marinha. Universidade de Lisboa.

Viles, F., Silverman, J., 1949. Determination of starch and cellulose with amylose. *Analytical Chemistry*, 21 (8): 930-933.

AGRADECIMIENTOS

M.I. Sáez posee una beca predoctoral de la Universidad de Almería y ha realizado una estancia de investigación en el laboratorio de Oceanografía e Acuicultura e Valoración, Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P. (IPMA) en Lisboa, Portugal. Gracias a Oksana Rodrykova por su apoyo en todos los análisis.

250

Ciclo gonadal, talla de primera madurez y potencial reproductor de *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz

Delgado M., Silva L., Martínez E., Juárez A.

Instituto Español de Oceanografía. C.O. Cádiz. Puerto Pesquero, Muelle de Levante s/n, 11.006, Cádiz.

marina.delgado@cd.ieo.es

RESUMEN

En este estudio se presentan datos sobre el ciclo reproductor, la talla de primera madurez y la fecundidad de *C. gallina* en el margen español del Golfo de Cádiz, obtenidos mediante el uso de técnicas histológicas y estereológicas. El ciclo gonadal se inició en noviembre, paralelo a un proceso de almacenamiento energético, y la mayoría de individuos permanecieron en este estado pre-activo hasta febrero. A partir del mes de enero fue posible detectar algunos individuos con signos de gametogenesis activa, si bien, el periodo reproductivo comprendió los meses de marzo a septiembre. El periodo de reposo sexual se redujo al mes de octubre.

La talla de primera madurez fue de 10,29 mm para hembras, 8,41 mm para machos y 9,34 mm para el conjunto de la población.

C. gallina es una especie de fecundidad continua indeterminada. El número de ovocitos potencialmente producidos por una hembra (BF) varió entre 76.835 – 797.424. Los modelos que mejor explicaron la fecundidad potencial parcial fueron: $BF = -34930,3 + 2.988 * L - 243.494 * S$, $r^2 = 0,88$, $p = 0,000$; $BF = 465.224 + 47.259,6 * LW - 238.616 * S$, $r^2 = 0,90$, $p = 0,000$; donde L: longitud, LW: peso vivo, S: estado de madurez).

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la estrategia reproductiva de una especie explotada resulta esencial en la gestión de su pesquería. Diferentes aspectos reproductivos de *C. gallina* han sido estudiados en diversos puntos del Mediterráneo, sin embargo, y a pesar de su importancia económica, escasea la información acerca de su ciclo gametogénico en el Golfo de Cádiz (Rodríguez de la Rúa *et al.*, 2003; Rodríguez de la Rúa, 2008). De hecho, existe cierta controversia acerca de parámetros reproductivos como la talla de primera madurez (16 mm: Rodríguez de la Rúa, 2008; 11 mm: Silva y Juárez, 2009), necesarios en la determinación de la fracción reproductora no explotada por la actividad pesquera.

Respecto al potencial reproductivo, diversas son las metodologías que se han usado en la estimación de la producción de ovocitos en bivalvos (Galinou-Mitsoudi, 1994; Pouvreau *et al.*, 2000; Royer *et al.*, 2008), siendo el método estereológico (Morvan y Ansell, 1988; Tirado y Salas, 1998) el más usado en especies con la gónada difusa en la masa visceral y en las que resulta más difícil evaluar la inversión en reproducción, como es el caso de *C. gallina*.

El objetivo principal de este estudio ha sido describir el ciclo gametogénico de *C. gallina* así como determinar la talla de primera madurez mediante técnicas histológicas. Asimismo, se aborda por primera vez la estimación de la fecundidad parcial mediante el uso de métodos estereológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

A lo largo de un año, y con periodicidad mensual, se recogieron muestras de *C. gallina* (mayo 2010 – abril 2011) a bordo de buques comerciales (dragas hidráulicas). Se determinaron el ciclo gonadal, la talla de primera madurez y el potencial reproductor:

1) Ciclo gonadal: Cada muestra comprendió 30 individuos dentro del rango de talla 20-30 mm de longitud. De cada individuo se tomó un trozo de masa visceral y se siguió un protocolo convencional de histología con inclusión en resina hidroxietilmetacrilato. Se diferenciaron los siguientes estados de desarrollo gametogénico: 1, Reposo sexual; 2, Inicio de la gametogénesis; 3, Gametogénesis avanzada; 4 (A, B y C), Periodo de reproducción; 5, Puesta.

En el periodo de mayor actividad reproductiva (mayo-junio 2010) se realizaron muestreos específicos para estimar:

2) Talla de primera madurez (L_{50}): Se tomaron más de 10 individuos por clase de talla, y para el rango de tallas comprendido entre 3-32mm (total individuos procesados: 136 machos, 155 hembras y 33 indeterminados). Se aplicó el mismo protocolo histológico y de asignación de estados descrito en el apartado (1).

3) Potencial reproductivo (o fecundidad parcial): Se tomaron 30 hembras dentro del rango de talla 20-30 mm (3 hembras/clase de talla). Se siguió un protocolo convencional de histología con inclusión del total de masa visceral en parafina. Se realizaron cortes seriados (cada 100 μm) del total de masa visceral. Se capturaron imágenes digitales del área visceral y gonadal mediante lupa, e imágenes específicas del tejido gonadal mediante microscopio 20x. Estas imágenes se analizaron con el programa NIS-Elements AR 3.2 para calcular: Volumen gonadal (G_v), fracción volumétrica de gametos (O_p), y volumen medio de ovocitos (O_v). El volumen total de gónada ocupada por ovocitos se calculó como $G_{vo} = O_f * G_v$, mientras que la fecundidad parcial (o nº de ovocitos potencialmente liberados en una puesta parcial) se calculó como: $n^\circ \text{ ovo} = G_{vo} (\mu\text{m}^3) / O_v$.

RESULTADOS

El periodo de reposo sexual (post-puesta) de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz comprendió el mes de octubre. En noviembre se inició la gametogénesis, proceso que transcurrió paralelo al proceso de acumulación de reservas energéticas. Los individuos permanecieron en este estado los meses de invierno, y en enero y febrero aún nos encontramos con casi el 50% de la población en este estado inicial de desarrollo. En esos meses también se comenzaron a apreciar signos claros de gametogénesis activa. Y es a partir del mes de marzo cuando se observó el inicio claro del periodo de reproducción (madurez y emisión de gametos) que se extendió hasta septiembre. A lo largo de todo este periodo se observaron signos de emisión parcial de gametos y asincronía gonadal, propios de especies de fecundidad indeterminada (Fig. 1, 2 y 3).

La talla de primera madurez (L_{50}) para las hembras se situó en 10,29 mm, y fue algo inferior para los machos, en concreto 8,41 mm. Para el conjunto de la población se ha definido una talla de primera madurez de 9,34 mm (Fig. 4).

Al tratarse *C. gallina* de una especie con desarrollo gonadal asincrónico, y por lo tanto,

fecundidad indeterminada, solo hemos podido aportar datos de fecundidad potencial parcial. Es decir, de ovocitos que serían potencialmente emitidos en una puesta parcial (o por tandas).

Entre el 40-60% de la masa visceral de esta especie se encuentra ocupada por la gónada cuando el individuo está en pleno periodo reproductivo, independientemente de la talla dentro del rango estudiado (20-30 mm). El volumen gonadal, que oscila entre el 37,25 y 205,95 mm³, estableció una relación lineal con la talla del individuo, lo que lo convierte en un exponente claro del grado de fecundidad del individuo ($Gv = 12L - 216,5$; $r^2 = 0,84$; $p = 0,000$). La fracción volumétrica de ovocitos maduros presentó valores que variaron entre 5,04 y 26,54 %. La fecundidad potencial parcial (BF) de *C. gallina* osciló entre 76.835 y 797.424 ovocitos/individuo, estableciéndose una relación exponencial entre el número de ovocitos y la longitud o el peso vivo (Tabla I). Estos modelos mejoraron considerablemente al introducir la variable subestado de maduración (4A o 4B). En cuanto a la fecundidad relativa (RBF), los modelos solo consiguieron explicar el 45% de la variabilidad en el mejor de los casos.

Tabla I. - Modelos de regresión múltiple y simple que relacionan el nº ovocitos (BF), o bien, nº ovocitos/peso vivo (nº ovocitos/g, RBF) con las variables biométricas, longitud (L, mm) o peso vivo (PV, g), y el estado de madurez (S, 4A(1) o 4B(2)). r^2 : coeficiente de determinación, p: nivel de significación.

Relación	Modelo	r^2	p
1 BF - L - S	$BF = -34.930,3 + 2,988*L - 243,494*S$	0,88	0,000
2 BF - L	$BF = e(8,58 + 0,15*L)$	0,81	0,000
3 BF - LW - S	$BF = 465,224 + 47,259,6*LW - 238,616*S$	0,90	0,000
4 BF - LW	$BF = e(11,15 + 0,22*LW)$	0,78	0,000
5 RBF - L - S	$RBF = 75.419,4 + 660,28*L - 23,246,1*S$	0,45	0,000
6 RBF - L	$RBF = 1.553,84 + 1.814,83*L$	0,24	0,006
7 RBF - LW - S	$RBF = 92.501,7 + 590,64*LW - 25.002,9*S$	0,43	0,001
8 RBF - LW	$RBF = 34.702,9 + 2.467,22*LW$	0,19	0,016

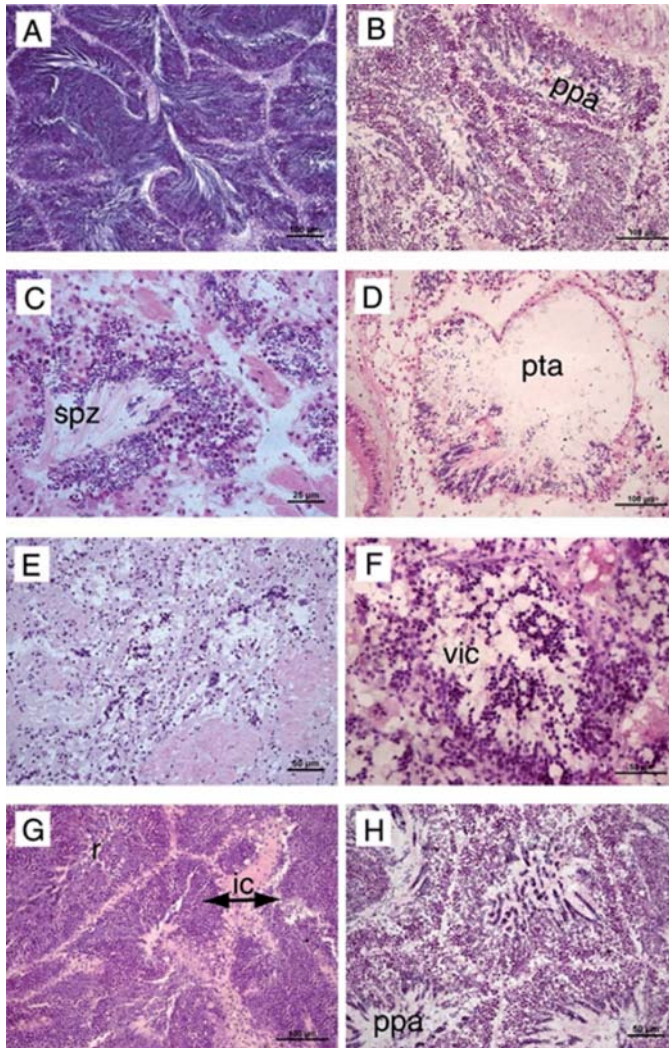


Figura 1.- Seguimiento histológico del desarrollo gonadal en machos de *C. gallina* a lo largo del ciclo anual (mayo 2010-abril 2011). A. Individuo totalmente maduro en mayo de 2010 (estado 4A). B. Macho tras sufrir emisiones parciales en julio de 2010 (estado 4B). C. Estado de regeneración gonadal en agosto de 2010 (estado 4C). D. Estado de postpuesta en septiembre de 2010 (estado 5). E. Individuo indeterminado en el mes de octubre de 2010 (estado 1). F. Inicio de la gametogénesis en noviembre de 2010 (estado 2). G. Gametogénesis activa en marzo de 2011 (estado estado 3). H. Signos de emisión parcial de gametos en abril de 2011 (estado 4B). Abreviaciones: ic: células inmaduras; ppa: puesta parcial en acino; pta: puesta total en acino r: rosetas de espermatozoides; spz: espermatozoides; vic: células vesiculares intrafolliculares.

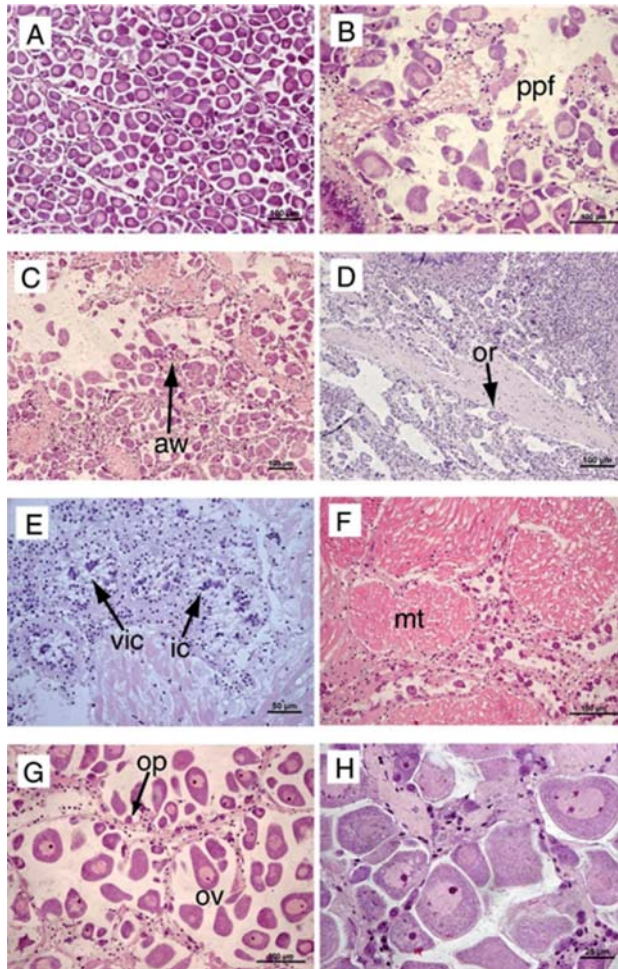


Figura 2.- Seguimiento histológico del desarrollo gonadal en hembras de *C. gallina* a lo largo del ciclo anual (mayo 2010-abril 2011). A. Individuo totalmente maduro en mayo de 2010 (estado 4A). B. Signos de puesta parcial en junio de 2010 (estado 4B). C. Síntomas de regeneración ovárica en julio de 2010 (estado 4C). D. Aspecto de la gónada en estado de postpuesta en septiembre de 2010 (estado 5). E. Inicio de la formación de células vesiculares intrafolliculares y gonias en un individuo indeterminado en el mes de octubre de 2010 (estado 1). F. Inicio de la gametogénesis en noviembre de 2010 (estado 2). G. Gametogénesis activa en marzo de 2011 (estado estado 3). H. Individuo maduro en abril de 2011 (estado 4A). Abreviaciones: aw: pared folicular; ic: células inmaduras; mt: tejido muscular; op: ovocito previtelogénico; or: ovocito residual; ov: ovocito vitelogénico; ppf: puesta parcial en folículo; vic: células vesiculares intrafolliculares.

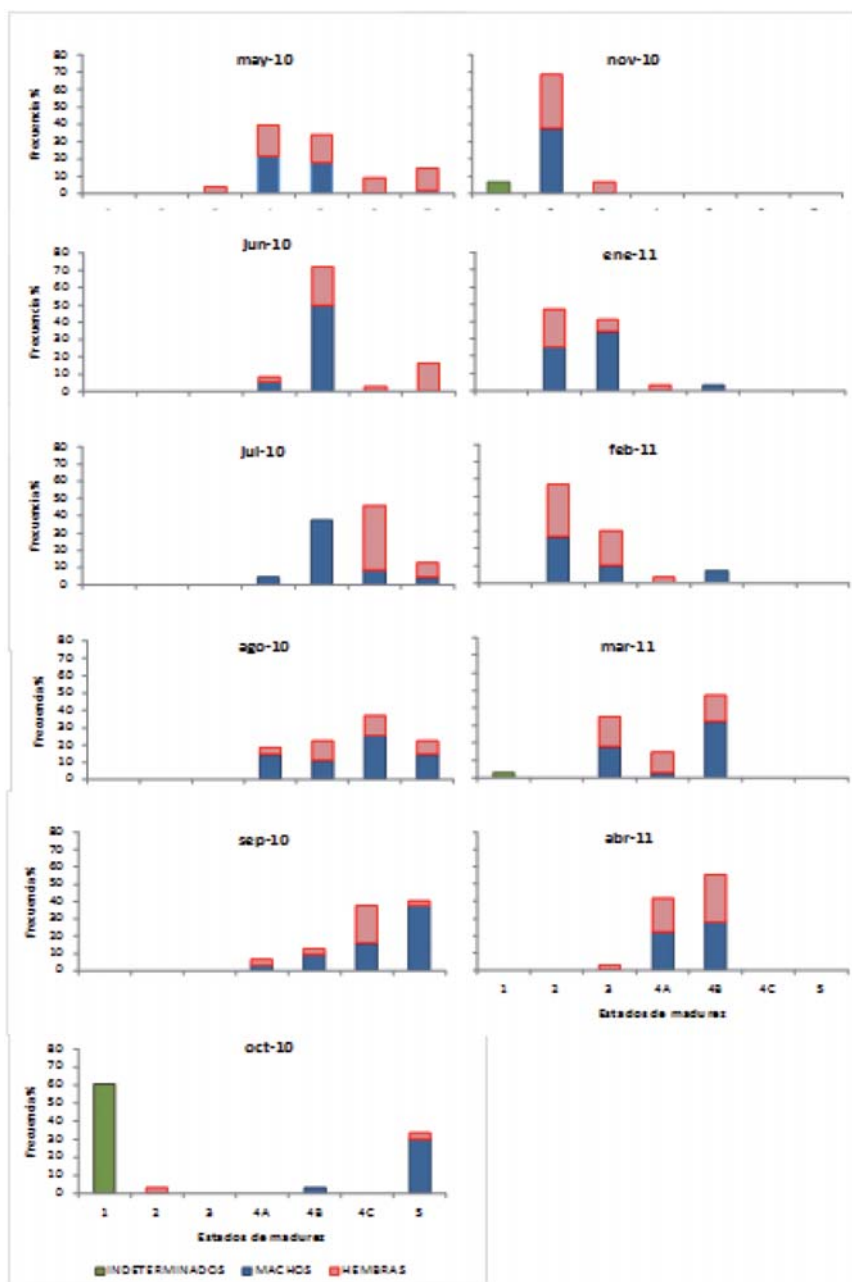


Figura 3.- Evolución del porcentaje relativo de individuos pertenecientes a cada estado de desarrollo gonadal a lo largo del periodo comprendido entre mayo de 2010 y abril de 2011.

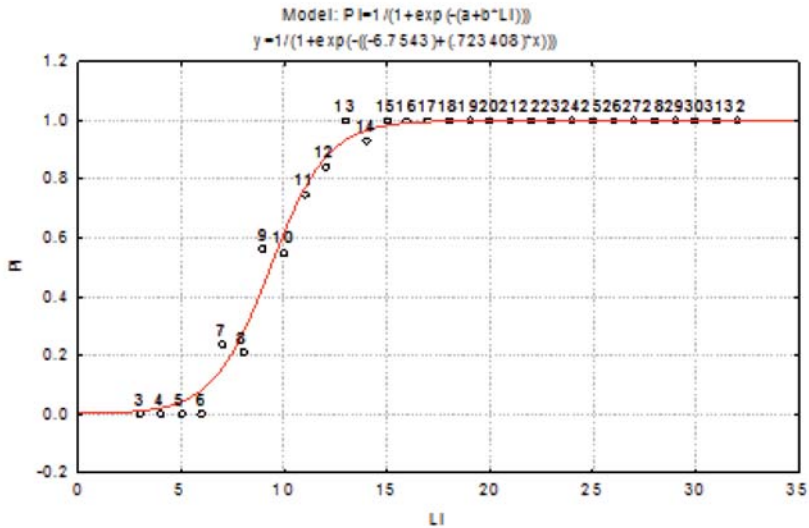


Figura 4.- Gráfica correspondiente a la curva de madurez obtenida mediante ajuste logístico para la población en su conjunto de *C. gallina*.

DISCUSIÓN

El ciclo reproductivo de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz muestra un patrón similar al descrito por autores como Rodríguez de la Rúa *et al.* (2003) y Rodríguez de la Rúa (2008) en la misma zona, observándose solo pequeñas diferencias en el inicio del periodo de reproducción. Respecto a la talla de primera madurez, nuestros resultados (9,34 mm) distan de los ofrecidos por estos autores (16 mm) pero se aproximan a los referidos (11 mm) por Royo (1984) y Silva y Juárez (2009). Probablemente tanto la metodología empleada como el rango de tallas elegido en los distintos estudios sean la base de estas diferencias.

A través del estudio del ciclo gonadal hemos constatado que *C. gallina* es una especie con desarrollo asincrónico de la gónada y presentan signos claros de emisión continua de gametos a lo largo de todo el periodo reproductivo. De ahí que tan solo podamos hablar de fecundidad potencial parcial. Los datos que hemos obtenidos (n° ovocitos oscila entre 76.835 y 797.424 ovocitos/individuo) son similares a los obtenidos en otros venéridos como *Donax trunculus* (Tirado y Salas, 1998) o *Tapes rhomboides* (Morvan y Ansell, 1988), pero inferiores a los referidos por Royer *et al.*, 2008 en *Crassostrea gigas*. Estos datos, además, se

relacionaron significativamente con parámetros como la longitud o el peso vivo, por lo que parece claro que los individuos más grandes o más pesados son, generalmente, más fecundos y contribuyen en mayor medida a la producción de ovocitos de toda la población. Es decir, los individuos de talla comprendida entre la talla de primera madurez (10,29 mm) y la talla de primera captura (25 mm), son los principales responsables de mantener la pesquería, si bien, su fecundidad es sensiblemente inferior a la de los individuos de talla superior a los 25 mm. En una situación con condiciones favorables para el reclutamiento (de presión pesquera y medioambiental), la actividad extractiva no debería afectar a la estructura de la población, y consecuentemente, al reclutamiento. Sin embargo, alteraciones en ese frágil equilibrio que lleven a fallos en el reclutamiento, precisarían necesariamente del aporte de ovocitos de los individuos de talla mayor.

CONCLUSIONES

- ❖ El ciclo gonadal de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz se inició en noviembre. A partir del mes de enero fue posible detectar algunos individuos con signos de gametogenesis activa, si bien, el periodo reproductivo comprendió los meses de marzo a septiembre. El periodo de reposo sexual se redujo al mes de octubre.
- ❖ La talla de primera madurez fue de 10,29 mm para hembras, 8,41 mm para machos y 9,34 mm para el conjunto de la población.
- ❖ El número de ovocitos potencialmente producidos por una hembra (BF) varió entre 76.835 – 797.424. La fecundidad potencial parcial de esta especie se relacionó significativamente con parámetros como la longitud o el peso vivo.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la participación en los muestreos y diferentes tareas del estudio a los compañeros del C.O. Cádiz. Agradecemos la colaboración de los observadores a bordo, así como, del sector pesquero en la obtención de muestras. El estudio ha sido financiado por el proyecto: "Análisis de la población de chirla, como especie de interés pesquero, en la reserva de pesca de la desembocadura del río Guadalquivir" mediante convenio de colaboración entre el Instituto Español de Oceanografía y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

BIBLIOGRAFÍA

- Galinou-Mitsoudi, S. y Sinis, A.I. 1994. Reproductive cycle and fecundity of the data mussel *Lithophaga lithophaga* (Bivalvia: Mtilidae). *J. Moll. Stud.*, 60: 371-385.
- Morvan, C. y Ansell, A.D. 1988. Stereological methods applied to reproductive cycle of *Tapes rhomboides*. *Mar. Biol.*, 97: 355-364.
- Pouvreau, S., Gagnery, A., Tiapari, J., Lagarde, F., Garnier, M. y Bodoy, A. 2000. Gametogenic cycle and reproductive effort of the tropical blacklip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Bivalvia: Pteriidae), cultivated in Takapoto atoll (French Polynesia). *Aquat. Living Resour.* 13: 37-48.
- Rodríguez de la Rúa, A., Prado, M.A. y Bruzón, M.A. 2003. Estudio del ciclo reproductor de *Chamelea gallina* (L. 1758) en tres poblaciones del litoral andaluz. *Bol. Inst. Esp. Oceanografía* 19 (1-4): 57-63.
- Rodríguez de la Rúa, A. 2008. Estudio del ciclo reproductor y la talla mínima de madurez de moluscos bivalvos y cefalópodos de interés pesquero en las costas andaluzas. Tesis Doctoral, Universidad de Cádiz. 175 pp.
- Royer, J., Seguineau, C., Park, K., Pouvreau, S., Choi, K-S y Costil, K. 2008. Gametogenic cycle and reproductive effort assessed by two methods in 3 age classes of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, reared in Normandy. *Aquaculture*, 277: 313-320.
- Royo, A. 1984. La chirla, Venus gallina L., en el litoral onubense. En: *Actas Simposio Ibérico de Estudios do Bentos Marinho*, 2:49-66. 21-25 de mayo 1984. Lisboa, Portugal.
- Silva, L. y A. Juárez. 2009. Estudio de la pesca de la chirla (*Chamelea gallina*) con dragas hidráulicas y rastros remolcados en el caladero del Golfo de Cádiz. Informe final del convenio de colaboración entre la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía y el Instituto Español de Oceanografía. 124 pp.
- Tirado, C. y Salas, C. 1998. Reproduction and fecundity of *Donax trunculus* L. 1758 (Bivalvia: Donacidae) in the littoral of Málaga (southern Spain). *J. Shell. Res.* 17 (1): 169-176.

Ciclo gonadal, talla de primera madurez y potencial reproductor de *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz

Marina Delgado, Luis Silva y Elena Martínez
 Instituto Español de Oceanografía, C.O. Cádiz.
 E-mail: marina.delgado@ci.ieo.es



Introducción

El conocimiento de la estrategia reproductiva de una especie explotada resulta esencial en la gestión de su pesquería. Diferentes aspectos reproductivos de *C. gallina* han sido estudiados en diversos puntos del Mediterráneo, sin embargo, y a pesar de su importancia económica, escasas la información acerca de su ciclo gametogénico en el Golfo de Cádiz (Rodríguez de la Rúa et al., 2003; Rodríguez de la Rúa, 2008). De hecho, existe cierta controversia acerca de parámetros reproductivos como la talla de primera madurez (16 mm: Rodríguez de la Rúa, 2008; 11 mm: Silva y Juárez, 2009), necesarios en la determinación de la fracción reproductora no explotada por la actividad pesquera.

Respecto al potencial reproductivo, diversas son las metodologías que se han usado en la estimación de la producción de ovocitos en bivalvos (Galainou-Mitsoudi, 1994; Pouvreau et al., 2000; Beukema et al., 2001; Royer et al., 2008), siendo el método estereológico (Morvan y Ansell, 1988; Tirado y Salas, 1998) el más usado en especies con la gónada difusa en la masa visceral y en las que resulta más difícil evaluar la inversión en reproducción, como es el caso de *C. gallina*.

El objetivo principal de este estudio ha sido describir el ciclo gametogénico de *C. gallina* así como determinar la talla de primera madurez mediante técnicas histológicas. Asimismo, se estima por primera vez su fecundidad parcial mediante el uso de métodos estereológicos.

Materiales y métodos

A lo largo de un año, y con periodicidad mensual, se recogieron muestras de *C. gallina* (mayo 2010 – abril 2011) a bordo de buques comerciales (dragas hidráulicos).

(1) **Ciclo gonadal:** Cada muestra comprendió 30 individuos dentro del rango de talla 20-30 mm de longitud. De cada individuo se tomó un trozo de masa visceral y se siguió un protocolo convencional de histología de inclusión en resina hidroxil-etil-metacrilato. Se diferenciaron los siguientes estados de desarrollo gametogénico: 1, Reposo sexual; 2, Inicio de la gametogénesis; 3, Gametogénesis avanzada; 4 (A, B y C), Período de reproducción; 5, Puesta (Fig. 1).

En el período de mayor actividad reproductiva (mayo-junio 2010) se realizaron muestreos específicos para estimar: (2) **Talla de primera madurez (L_{50}):** Se tomaron más de 10 individuos por clase de talla, y para el rango de tallas comprendido entre 3-32mm (total individuos procesados: 136 machos, 155 hembras y 33 indeterminados). Se aplicó el mismo protocolo histológico y de asignación de estados descrito en el apartado (1). (3) **Potencial reproductivo (o fecundidad parcial):** Se tomaron 30 hembras dentro del rango de talla 20-30 mm (3 hembras/clase de talla). Se siguió un protocolo convencional de histología con inclusión del total de masa visceral en parafina. Se realizaron cortes seriados (cada 100 µm) del total de masa visceral. Se capturaron imágenes digitales del área visceral y gonadal mediante lupa, e imágenes específicas del tejido gonadal mediante microscopio 20x. Estas imágenes se analizaron con el programa NIS-Elements AR 3.2 para calcular: Volumen gonadal (G_v), fracción volumétrica de gametos (G_g) y volumen medio de ovocitos (O_v). El volumen total de gónada ocupada por ovocitos se calculó como $G_v \cdot O_g \cdot G_g$, mientras que la fecundidad parcial se calculó como: $ov = ov \cdot G_v \cdot G_g \cdot O_v$.

Resultados y Discusión

(1) **Ciclo gonadal:** El período de reposo sexual (post-puesta) de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz comprendió el mes de octubre. En noviembre se inició la gametogénesis, proceso que transcurrió paralelo al proceso de la acumulación de reservas energéticas. Los individuos permanecieron en este estado los meses de invierno, y en enero y febrero aún nos encontramos con casi el 50% de la población en este estado inicial de desarrollo. En esos meses también se comenzaron a apreciar signos claros de gametogénesis activa. Y es a partir del mes de marzo cuando se observó el inicio claro del período de reproducción (madurez y emisión de gametos) que se extendió hasta septiembre. A lo largo de todo este período se observaron signos de emisión parcial de gametos y asincronía gonadal, propios de especies de fecundidad indeterminada (Fig. 1 y 2).

(2) **Talla de primera madurez:** La talla de primera madurez (L_{50}) para las hembras se situó en 10,29 mm, y fue algo inferior para los machos, en concreto 8,41 mm. Para el conjunto de la población se ha definido una talla de primera madurez de 9,34 mm (Fig. 3).

(3) **Potencial reproductivo:** Al tratarse *C. gallina* de una especie con desarrollo gonadal asincrónico, y por lo tanto, fecundidad indeterminada, solo hemos podido aportar datos de fecundidad potencial parcial. Es decir, de ovocitos que serían potencialmente emitidos en una puesta parcial (o por tandas).

El volumen gonadal, que oscila entre el 37,25 y 205,95 mm³, estableció una relación lineal con la talla del individuo, lo que lo convierte en un exponente claro del grado de fecundidad del individuo (Fig. 4). La fecundidad potencial parcial de ovocitos maduros presentó valores que variaron entre 5,04 y 26,54 %. La fecundidad potencial parcial de *C. gallina* osciló entre 76.835 y 797.424 ovocitos/individuo, estableciéndose una relación exponencial entre el número de ovocitos y la longitud o el peso vivo (Tabla 1). Estos modelos mejoraron considerablemente al introducir la variable subestado de maduración (A a 4B). La producción de ovocitos de esta especie es inferior a la de otros bivalvos como *Crossostrea gigas* (Royer et al., 2008), pero similar a la de otros venerídeos como *Tapes rhomboides* (Morvan y Ansell, 1988) o *Donax trunculus* (Tirado y Salas, 1998).

En resumen, parece claro que los individuos más grandes o más pesados son, generalmente, más fecundos y contribuyen en mayor medida a la producción de ovocitos de toda la población. Es decir, los individuos de talla comprendida entre la talla de primera madurez (10,29 mm) y la talla de primera captura (25 mm), son los principales responsables de mantener la pesquería, si bien, su fecundidad es sensiblemente inferior a la de los individuos de talla superior a los 25 mm. En una situación con condiciones favorables para el reclutamiento (de presión pesquera y medioambiental), la actividad extractiva no debería afectar a la estructura de la población, y consecuentemente, al reclutamiento. Sin embargo, alteraciones en ese frágil equilibrio que lleven a fallos en el reclutamiento, preciarían necesariamente del aporte de ovocitos de los individuos de talla mayor.



Referencias
 Bekkuwa, J.J. y W. de Bruin, 1977. *Neth. J. Sea Res.* 11: 42-55. Galainou-Mitsoudi, S. y A.L. Smith, 1994. *J. Shell Res.* 14: 371-385. Morvan, C. y A.O. Ansell, 1988. *Mar. Biol.* 97: 355-364. Pouvreau, S. et al., 2000. *Appl. Dev. Resour.* 11: 37-48. Rodríguez de la Rúa, A. et al., 2003. *Rev. Inst. Esp. Oceanografía* 19: 11-43. 57-63. Rodríguez de la Rúa, A., 2008. Tesis Doctoral, Universidad de Cádiz. 179 pp. Royer, J. et al., 2008. *Hydrobiologia* 777: 313-320. Silva, L. y A. Suárez, 2009. Informe Convenio Junta de Andalucía-IEO. 124 pp. Tirado, C. y C. Salas, 1998. *J. Shell Res.* 17 (1): 149-176.

Agradecimientos

Queremos agradecer la participación en los muestreos y diferentes tareas del estudio a los compañeros del C.O. Cádiz, especialmente a Ana Juárez. Agradecemos la colaboración de los observadores a bordo, así como, del sector pesquero en la obtención de muestras. El estudio ha sido financiado por el proyecto "Análisis de la población de chía, como especie de interés pesquero, en la reserva de zona de la desembocadura del río Guadaluquivir" mediante convenio de colaboración entre el Instituto Español de Oceanografía y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

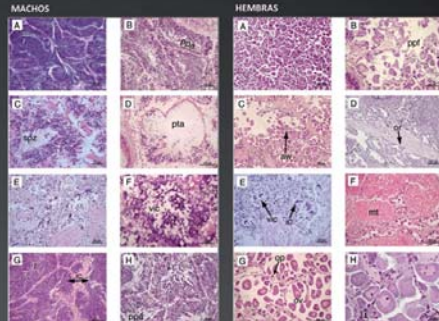


Figura 1. Seguimiento histológico del desarrollo gonadal en machos y hembras de *C. gallina* a lo largo del 2010 (mayo-junio 2010) hasta 2011. MACHOS: A. Individual histológico maduro en mayo de 2010 (estado 4B). B. Macho tres días después postpuesta en julio de 2010 (estado 4B). C. Estado de regeneración postpuesta en agosto de 2010 (estado 4C). D. Estado de postpuesta en septiembre de 2010 (estado 5). E. Individuo maduro en octubre de 2010 (estado 1). F. Inicio de la gametogénesis en noviembre de 2010 (estado 2). G. Gametogénesis avanzada en marzo de 2011 (estado 3). H. Signos de emisión parcial de gametos en abril de 2011 (estado 4B). HEMBRAS: A. Individuo histológico maduro en mayo de 2010 (estado 4B). B. Signos de puesta parcial en junio de 2010 (estado 4B). C. Sistema de reproducción activo en julio de 2010 (estado 4C). D. Estado de puesta parcial en septiembre de 2010 (estado 5). E. Inicio de la regeneración de células vitelínicas vitelígenas y gametos en un individuo maduro en octubre de 2010 (estado 1). F. Inicio de la gametogénesis en noviembre de 2010 (estado 2). G. Gametogénesis avanzada en marzo de 2011 (estado 3). H. Individuo maduro en agosto de 2011 (estado 4B). Abreviaturas: ov: ovocitos; gónada: gónada; gón: tejido gonadal; gón. 20x: imagen microscopio 20x; gón. 100x: imagen microscopio 100x; gón. 400x: imagen microscopio 400x; gón. 1000x: imagen microscopio 1000x; gón. 2000x: imagen microscopio 2000x.

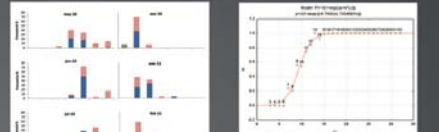


Figura 2. Evolución del porcentaje de individuos pertenecientes al ciclo gonadal de *Chamelea gallina* a lo largo del periodo comprendido entre mayo de 2010 y abril de 2011.

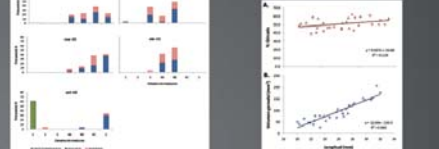


Figura 3. Evolución del potencial reproductivo de *Chamelea gallina* en función de la longitud y el peso vivo. El eje de las abscisas representa la longitud (mm) y el eje de las ordenadas el potencial reproductivo (ovocitos/individuo).

Tabla 1. Relación entre la fecundidad (ovocitos) y la fecundidad parcial (ovocitos por puesta parcial) y la longitud (L) para *Chamelea gallina* (n=48) en el estado de maduración (A, B, C) (n=11) o 4B (n=22) mediante modelos de regresión multivariante y univariante.

Relación	Modelo	R ²	p
1) BF-L-S	BF = 34.930,5 + 2,988*L - 243,494* ²	0,88	0,000
2) BF-L	BF = e (8,58 + 0,15*L)	0,81	0,000
3) BF-LW-S	BF = 465,224 + 47,259,6*W ^{0,15} - 238,831*W ^{0,2}	0,90	0,000
4) BF-LW	BF = e (11,15 + 0,22*W ^{0,15})	0,78	0,000
5) RFP-L-S	RFP = 75,419,14 + 660,28*W ^{0,15} - 23,346,1*W ^{0,2}	0,45	0,000
6) RFP-L	RFP = 1,553,84 + 1,814*83*W ^{0,15}	0,24	0,006
7) RFP-LW-S	RFP = 92,507,7 + 590,64*W ^{0,15} - 25,000*W ^{0,2}	0,43	0,001
8) RFP-LW	RFP = 34,702,9 + 2,467,22*W ^{0,15}	0,19	0,016

Criopreservación de microalgas marinas: *Nannochloropsis gaditana*, *Rhodomonas lens*, *Cylindrotheca closterium*, *Chaetoceros gracilis*, *Synechococcus* sp. e *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO

Paredes¹ E., Costas² D., Casal² A., Cortina-Burgueño³ A., Lubián⁴ L.M.

¹Departamento de Ecoloxía e Bioloxía Animal, Facultade de Ciencias do Mar, Universidade de Vigo. 36310 Vigo, Pontevedra, España.

²Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), Universidade de Vigo, Illa de Toralla s/n. 36331 Vigo, Pontevedra, España.

³Departamento de Microbioloxía y Parasitología, Facultad de Biología-CIBUS, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España.

⁴Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC) Avda. República Saharaui, 2. 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

eparedes@uvigo.es, angela.cortina@usc.es

RESUMEN

La criopreservación es una herramienta que se está aplicando exitosamente para la conservación de cultivos de microalgas, con un considerable ahorro de costes en el mantenimiento de colecciones a nivel mundial, sobre todo en microalgas de agua dulce. Su aplicación para el mantenimiento de cultivos microalgales marinos es de vital importancia para el crecimiento, almacenamiento y sostenibilidad económica de las colecciones de microalgas marinas.

Durante el *Cryoworkshop ECIMAT 2012* se llevó a cabo la determinación de la eficacia de dos metodologías con diferente coste económico y el desarrollo de protocolos de criopreservación para microalgas marinas, comparando resultados mediante el uso de una criocámara y un congelador pasivo y usando dos concentraciones diferentes de crioprotector (Me_2SO

10% v/v y 15% v/v) en cada caso. Se congelaron microalgas procedentes de varias colecciones y en diferentes condiciones de cultivo previas y se midieron los resultados analizando fluorescencia in vivo y densidad celular los días 3, 11 y 19 tras la descongelación.

Se ha conseguido la criopreservación de todas las especies de microalgas del experimento, aunque con resultados de calidad diferente por lo que deberá llevarse a cabo una investigación más detallada tanto para ajustar el protocolo de criopreservación como para mejorar los resultados de viabilidad y estado fisiológico previo a la congelación.

El buen resultado del congelador pasivo en comparación con métodos más caros y complejos, acerca la posibilidad de aplicar la técnica de criopreservación a muchísimos laboratorios y colecciones.

PALABRAS CLAVE

Criopreservación, microalgas marinas, Me_2SO .

INTRODUCCIÓN

La criopreservación se ha usado exitosamente para el almacenamiento y mantenimiento de cultivos de microalgas de agua dulce y, en menor medida, para las marinas (Rhodes *et al.*, 2006). Entre las ventajas de esta técnica para el mantenimiento de las colecciones microalgales están: el menor consumo de tiempo de personal especializado, el menor coste económico, la preservación intacta y funcional de las cepas y un menor espacio de almacenamiento. Todas estas ventajas permitirían un incremento en las especies que cualquier laboratorio podría tener a su disposición y permitiría mantener las características originales de las cepas aisladas, sin riesgo de someterlas a presión selectiva por múltiples recepados. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que aún existen ciertas desventajas, ya que se requiere una inversión inicial en material especializado, se necesita un flujo regular de nitrógeno líquido y la regeneración de un cultivo vigoroso necesita más tiempo (Day y Brand, 2005). Además de todas estas dificultades, es probable que las condiciones de criopreservación sean particulares para cada especie por lo que, para muchas de ellas los protocolos óptimos aún no se han descrito.

El objetivo de este estudio, fue probar dos metodologías diferentes de criopreservación

de muy diferente coste económico: la criocámara con congelación a temperatura controlada (Cryologic Pty. Ltd.) y un congelador pasivo (Mr Frosty, Nalge Nunc International Corporation). Para el desarrollo preliminar de un protocolo de criopreservación para seis especies de microalgas marinas de interés en acuicultura (Ferreira *et al.* 2009, Seixas *et al.* 2009, Tremblay *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2010), producción comercial de metabolitos (Forján *et al.*, 2007, Pruvost *et al.*, 2011, Bondioli *et al.*, 2012) o evaluación de la contaminación marina (Mhadhbi *et al.*, 2012): *Nannochloropsis gaditana*, *Rhodomonas lens*, *Cylindrotheca closterium*, *Chaetoceros gracilis*, *Synechococcus sp.* and *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las microalgas utilizadas para los experimentos procedieron de la aportación de diversos colaboradores. La procedencia y las condiciones de cultivo previas se detallan en la tabla I.

Tabla I.- Condiciones de cultivo previas a la criopreservación.

Algae	Nutrients	Light/ Dark hours	Irradiance*	Ph	T ^a (°C)	Regimen	Age (days)	Origins
<i>Nannochloropsis gaditana</i> <i>Isochrysis aff. Galbana</i> clon T-ISOCMO 1324 <i>Chaetoceros gracilis</i>	Cultures carried out in sterilized sea water, salinity 35‰, and enriched with nutrients to a final concentration of 4Mm NaNO ₃ (Fabregas <i>et al.</i> , 1986)	12:12	200 μmol photon m ⁻² s ⁻¹	7,5-8,0	21,0±1,5	Semicon- tinuous	15	Provided by L. Lubian, CSIC-ICMAN and cultured in USC.
<i>Rhodomonas lens CCMP 739</i>		24h light	20 μmol photon m ⁻² s ⁻¹		19,0±1,5			Provided by P. Seixas, Aqualgae and cultured in ECIMAT
<i>Cylindrotheca Closterium</i>		16:08	20 μmol photon m ⁻² s ⁻¹		19,0±1,6	Bath		Isolated from Cabo Silleiro, Spain by D. Costas and cultured in ECIMAT
<i>Synechococcus sp.</i>		F/2 (Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H. 1962)		30 μmol photon m ⁻² s ⁻¹	8,5-9,0	20,0±1,5		

* Irradiance was measured with a Luxmeter Neurtex HD8366, data converted according to Ginzburg 1987.

El protocolo de criopreservación empleado con la criocámara consistió en la adición de 1 ml de agente crioprotector (Me_2SO 10% v/v o 15% v/v) a 1 ml de cultivo en 10 pasos de 100 μl /minuto. Los cultivos se mantuvieron en oscuridad para equilibrarse con el crioprotector durante 30 minutos. Los cultivos listos para la criopreservación de sellan dentro de pajuelas de 0,25 ml y se introducen en la criocámara programada con el siguiente protocolo: 2 minutos aclimatación a temperatura ambiente, congelar a $1^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta -10°C , mantener a -10°C 1 minuto y congelar a 3°C min^{-1} hasta -40°C . Se mantiene 10 minutos a esta temperatura antes de introducir las muestras en nitrógeno líquido para su almacenamiento. La metodología del congelador pasivo es similar, las muestras se dejan equilibrar en oscuridad en crioviales de 2 ml que después se introducirán en el Mr. Frosty y en un congelador de -80°C durante 2 horas (tasa de congelación de $1^\circ\text{C}/\text{min}$) antes de almacenarse en nitrógeno líquido.

En ambos casos la descongelación se realizó en un baño de 35°C . Se realizó una dilución seriada del agente crioprotector en 10 pasos de 250 μl /minuto con medio de cultivo fresco hasta un volumen final de 2,5 ml que se dejó equilibrar en oscuridad durante 5 minutos antes de iniciar la incubación en oscuridad durante las primeras 12-24 horas.

La viabilidad de los cultivos descongelados se evaluó 3, 11 y 19 días después de la descongelación, combinando las medidas de fluorometría en vivo (Aquafuor 8000-700 Turner designs) relativas (método relativo indicativo de la *fitness* de los cultivos de microalgas procedentes de la criopreservación frente a controles en fresco) con medidas de densidad celular (hematocitómetro Neubauer improved) y análisis de características morfológicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de fluorescencia in vivo así como medidas de densidad en los cultivos (Figs. 1 a 5) y control de factores físicos-morfológicos indicativos de daño en el cultivo (Tabla II) demuestran que ambos métodos de criopreservación permiten obtener, con éxito dependiente de la especie, cultivos viables tras la descongelación.

Aquellas especies con una pared celular más resistente, como *Nannochloropsis gaditana* o *Chaetoceros gracilis* se pueden criopreservar y obtener células viables tras la descongelación con mayor facilidad.

Tabla II.- Resultados del examen microscópico de los cultivos descongelados durante la incubación. Los símbolos (-, +, ++) son una graduación cuantitativa de la cantidad de células en cada condición, haciendo referencia en cada caso a: poca (-), media (+) y alta (++) . En la columna de éxito de la criopreservación (p): (~) hace referencia a microalgas criopreservadas pero con cultivos insalubres, o en número reducido, (√) significa criopreservación realizada con éxito.

Microalgae treatment	Dead/senescent	Appearance	Cryopreservation success	Observations
1. <i>Nannochloropsis gaditana</i> controls	-	++		
1.1 Me ₂ SO 10% Passive freezer	-	++	√	
1.2 Me ₂ SO 10% Controlled freezer	+	++	√	
1.3 Me ₂ SO 15% Passive freezer	-	++	√	
1.4 Me ₂ SO 15% Controlled freezer	+	++	√	
2. <i>Cylindrotheca closterium</i> controls	+	++		
2.1 Me ₂ SO 10% Passive freezer	+	++	√	Bacterial presence in the cryopreserved treatments
2.2 Me ₂ SO 10% Controlled freezer	-	++	√	
2.3 Me ₂ SO 15% Passive freezer	+	++	√	
2.4 Me ₂ SO 15% Controlled freezer	+	++	√	
3. <i>Synechococcus</i> sp.	-	+		
3.1 Me ₂ SO 10% Passive freezer	+	-	~	No clusters in cryopreserved treatments
3.2 Me ₂ SO 10% Controlled freezer	-	++	~	
3.3 Me ₂ SO 15% Passive freezer	+	-	~	
3.4 Me ₂ SO 15% Controlled freezer	-	++	~	
4.- <i>Rhodomonas lens</i>	+	++		
4.1 Me ₂ SO 10% Passive freezer	-	++	√	
4.2 Me ₂ SO 10% Controlled freezer	-	+	√	
4.3 Me ₂ SO 15% Passive freezer	+	+	√	
4.4 Me ₂ SO 15% Controlled freezer	+	-	√	
5.- <i>Chaetoceros gracilis</i>	+	+		
5.1 Me ₂ SO 10% Passive freezer	+	-	~	
5.2 Me ₂ SO 10% Controlled freezer	+	-	√	
5.3 Me ₂ SO 15% Passive freezer	+	-	~	
5.4 Me ₂ SO 15% Controlled freezer	+	-	√	
6.- <i>Isochrysis aff. galbana</i> clone T-ISO	-	++		
6.1 Me ₂ SO 10% Passive freezer	+	+	~	Cross contamination in cryopreserved treatments
6.2 Me ₂ SO 10% Controlled freezer	+	+	~	
6.3 Me ₂ SO 15% Passive freezer	+	+	~	
6.4 Me ₂ SO 15% Controlled freezer	+	+	~	

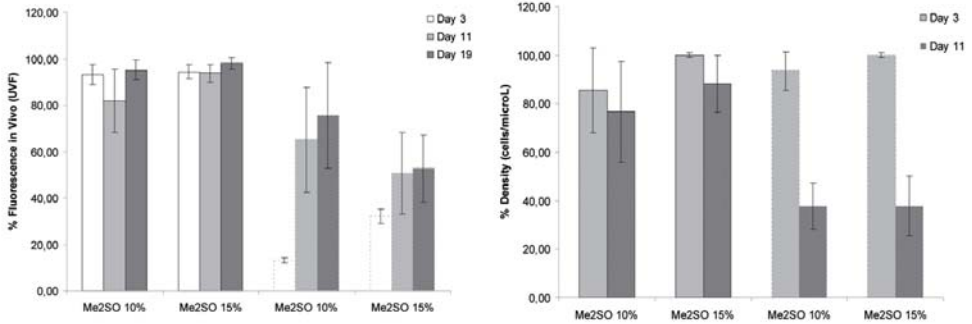


Figura 1. – Resultados de fluorescencia *in vivo* y densidad celular. *Nannochloropsis gaditana*.

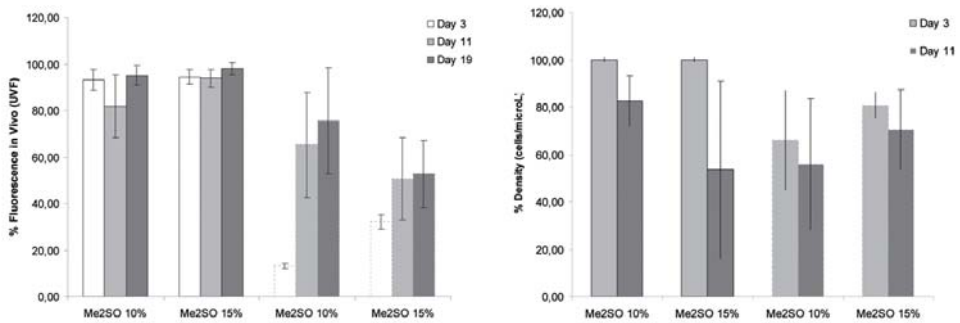


Figura 2.-Resultados de fluorescencia *in vivo* y densidad celular. *Cylindrotheca closterium*.

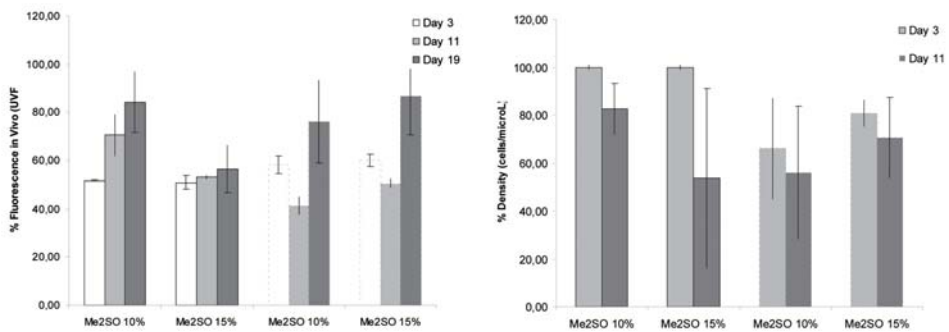


Figura 3.-Resultados de fluorescencia *in vivo* y densidad celular. *Synechococcus* sp.

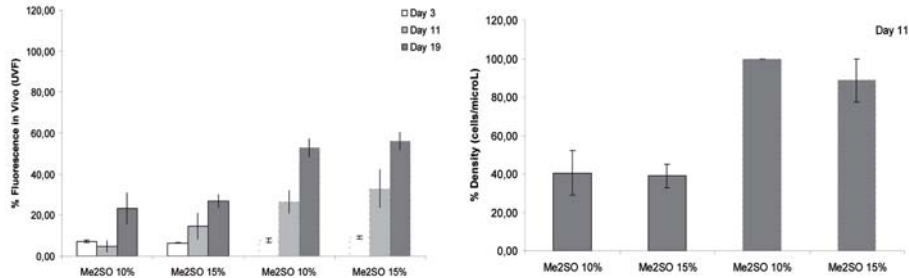


Figura 4.-Resultados de fluorescencia in vivo y densidad celular. *Rhodomonas lens*.

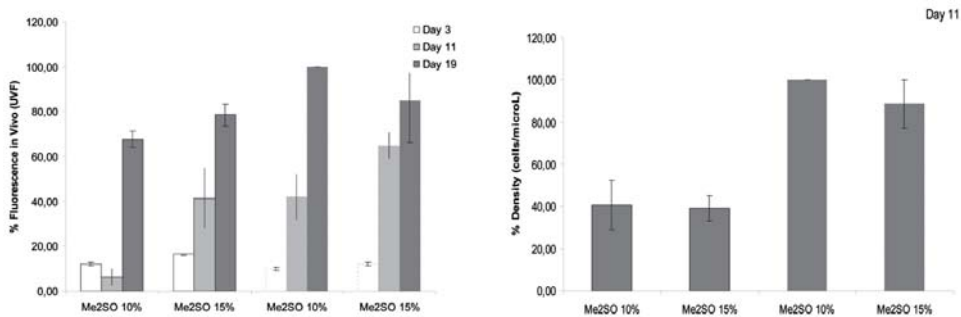


Figura 5.-Resultados de fluorescencia in vivo y densidad celular. *Chetoceros gracilis*.

Una investigación más detallada debería llevarse a cabo tanto con *Synechococcus* sp. como con *Isochrysis aff. galbana* clon T-ISO para ajustar el protocolo de criopreservación y mejorar los resultados. En cualquier caso, estos resultados positivos para T-ISO son un estímulo para seguir investigando, ya que los experimentos previos con el objetivo de criopreservar esta especie o *Isochrysis galbana* Parke, similar a T-ISO, han sido infructuosos (Cañavate y Lubián, 1994; Tzovenis *et al.*, 2004)

A pesar de la diferencia en coste de ambos equipos de congelación, usando la misma tasa de 1°C/min, no se ha encontrado gran diferencia entre ambas metodologías, aunque *Rhodomonas lens* y *Chaetoceros gracilis* si mostraron una mejor calidad de cultivo tras ser congeladas en la criocámara. El buen resultado del congelador pasivo - a un nivel similar que un equipo de mayor coste y complejo - junto con su sencillez de manejo, acercan la posibilidad de aplicar la técnica de criopreservación en muchos laboratorios y la lista de microalgas marinas que ya tienen un protocolo de criopreservación definido no para de aumentar. Sin

embargo, debemos tener en cuenta que el congelador pasivo solamente nos permite una tasa de congelación, limitando las posibilidades de conservación a aquellas especies cuya tasa de congelación óptima se acerque a 1°C/min, así como la calidad de los resultados.

No se han encontrado diferencias significativas entre las dos concentraciones de Me₂SO utilizadas, así que cuando sea posible, lo recomendable es utilizar la menor dosis de crioprotector posible para reducir posibles efectos tóxicos (Paredes *et al.*, 2009). Las medidas de fluorescencia in vivo nos han dado una estimación indirecta muy rápida y sencilla de la salud de los cultivos a lo largo del periodo de incubación en comparación con los controles no congelados. Esta medida puede ser especialmente útil para acompañar/sustituir los recuentos de densidad que se ven dificultados por la formación de cadenas, películas o agregados- aunque la observación bajo microscopio de indicadores morfológicos de la salud de los cultivos es recomendable.

CONCLUSIONES

La criopreservación de cepas de microalgas al alcance de todos los laboratorios/empresas podría suponer un gran ahorro de tiempo y recursos. Los buenos resultados obtenidos utilizando un congelador pasivo son esperanzadores para que se continúe investigando en esta línea y definiendo cada vez mas protocolos de criopreservación para diferentes especies de microalgas marinas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la dirección y al personal de la Estación de ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT) la ayuda humana, técnica y económica facilitada para la realización de los experimentos.

Es de especial mención el agradecimiento a todos los colaboradores en el *Microalgae Cryoworkshop ECIMAT 2012* por su colaboración y aportaciones, especialmente a: Raquel Amaral, grupo de Ficología da Algoteca de Coimbra (ACOI), Universidade de Coimbra, (Portugal), Ana María Otero, Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Santiago de Compostela (USC), Pedro Seixas y José Peña de la empresa Aqualgae S.L. www.aqualgae.com y María Pérez del Laboratorio de Ecoloxía Mariña de la Universidade de Vigo.

BIBLIOGRAFÍA

- Bondioli P., Della Bella L., Rivolta G. 2012. Oil production by the marine microalgae *Nannochloropsis* sp. F&M-M24 and *Tetraselmis suecica* F&M-M33. *Bioresour. Technol.* 114: 567-72.
- Cañavate J.P., Lubián L.M. 1995. Some aspects on the cryopreservation of microalgae used as foods for marine species. *Aquaculture* 136: 277-290
- Day J.G., Brand J.J. 2005. *Cryopreservation methods for maintaining cultures*. In: Andersen RA (eds.) *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, New York, pp. 165-187.
- Ferreira M., Coutinho P., Seixas P., Fábregas J., Otero, A. 2009. Enriching rotifers with “premium” microalgae. *Nannochloropsis gaditana*. *Marine Biotechnology* 11: 585-595.
- Forján E., Garbayo I., Casal C., Vílchez C. 2007. Enhancement of carotenoid production in *Nannochloropsis* by phosphate and sulphur limitation. En: Méndez-Vilas, A. (eds.) *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. Microbiology Book Series, Vol. I, pp. 356-364.
- Mhadhbi L., Rial D., Pérez S., Beiras R. 2012. Ecological risk assessment of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) in marine environment using *Isochrysis galbana*, *Paracentrotus lividus*, *Siriella armata* and *Psetta maxima* J. *Environ. Monit.* 14, pp.1375-1382
- Paredes E., Bellas J. (2009) Cryopreservation of sea urchin embryos (*Paracentrotus lividus*) applied to marine ecotoxicological studies. *Cryobiology* 59: 344-350.
- Pruvost J., Van Vooren G., Le Gouic B., Couzinet-Mossion A., Legrand J. 2011. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application. *Bioresour. Technol.* 102: 150–158.
- Rhodes L., Smith J., Tervit R., Roberts R., Adamson J., Adams S.L. Decaer M. 2006. Cryopreservation of economically valuable marine micro-algae in the classes Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyano-phyceae, Dinophyceae, Haptophyceae, Prasino-phyceae, and Rhodophyceae. *Cryobiology* 52: 152-156.
- Seixas P., Coutinho P., Ferreira M., Otero A. 2009. Nutritional value of the cryptophyte *Rhodomonas lens* for *Artemia* sp. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 381: 1–9.
- Tremblay R., Cartir S., Miner,P., Pernet F., Quére C., Moal J., Muzellec M.L., Mazuret M., Samain J.F. 2007. Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus*. *Aquaculture* 262: 410–418.

- Tzovenis I., Triantaphyllidis G., Naihong X., Chatzinikolaou E., Papadopoulo K., Xouri G., Tafas T. 2004. Cryopreservation of marine microalgae and potential toxicity of cryoprotectants to the primary steps of the aquacultural food chain. *Aquaculture* 230: 457-473
- Zhang Z, Wang F, Wang X, Liu X, Hou Y, Zhang Q. 2010. Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity in vitro. *Carbohydr. Polym.* 82: 118–121.

Marine Microalgae Cryopreservation

Nannochloropsis gaditana, *Rhodomonas lens*, *Cylindrotheca closterium*, *Chaetoceros gracilis*, *Synechococcus* sp and *Isochrysis aff. galbana* clone T-ISO.

*Paredes, E.¹; Costas, D.²; Casal, A.²; Cortina-Burguño, A.³; Lubián L.M.⁴

¹ Departamento de Ecología e Bioloxía Animal, Universidade de Vigo, Estrada Colexio Universitario s/n, 36310 Vigo, Galicia, Spain
² Estación de Ciencias Marillas de Toralla (ECIMAT) Universidade de Vigo, Illa de Toralla s/n, 36331 Corvuso-Vigo, Galicia, Spain
³ Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología-CIBUS, Universidad de Santiago de Compostela, 15762.
⁴ Instituto de Ciencias Marillas de Andalucía (ICMA) Avda. República Saharaui, s/n 11510 Puerto Real (Cádiz)

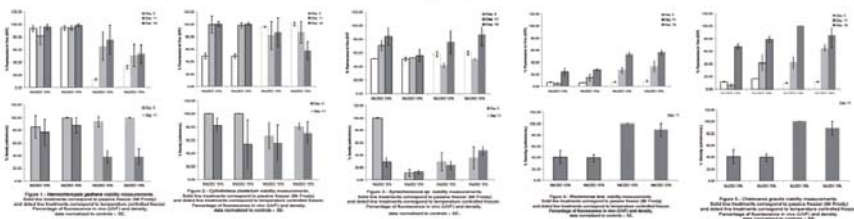
Universidade de Vigo



INTRODUCTION

Cryopreservation has been successfully applied to the storage of marine and freshwater micro algae cultures (Day & Brand 2005, Rhodes et. al 2005). The aim of this study was to test two different methods of cryopreservation, a controlled rate freezer (Cryologic Pty. Ltd.) and a passive freezer (Mr Frosty Nunc International Corporation) for a cryopreservation attempt of six marine micro algae of special interest in aquaculture, commercial production of high economic value metabolites or evaluation of marine pollution: *Nannochloropsis gaditana*, *Rhodomonas lens*, *Cylindrotheca closterium*, *Chaetoceros gracilis*, *Synechococcus* sp. and *Isochrysis aff. galbana* clone T-ISO (Table 0).

RESULTS



Microalgae treatment	Recovery	Appearance	Cryopreservation success	Observations
1. <i>Nannochloropsis gaditana</i> control	++	++	✓	
1.1 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
1.2 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
1.3 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
1.4 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
2. <i>Rhodomonas lens</i> control	++	++	✓	
2.1 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
2.2 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
2.3 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
2.4 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
3. <i>Cylindrotheca closterium</i> control	++	++	✓	
3.1 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
3.2 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
3.3 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
3.4 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
4. <i>Chaetoceros gracilis</i> control	++	++	✓	
4.1 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
4.2 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
4.3 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
4.4 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
5. <i>Synechococcus</i> sp. control	++	++	✓	
5.1 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
5.2 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
5.3 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
5.4 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
6. <i>Isochrysis aff. galbana</i> clone T-ISO control	++	++	✓	
6.1 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
6.2 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	
6.3 10% 10% Passive freezer	+	+	✓	
6.4 10% 10% Controlled freezer	+	+	✓	

Table 0. Microalgae culture results after cryopreservation. Symbols (+, ++, +++) mean quantitative gradation of amount of microalgae cells in each condition, from: almost nothing (-); average (+) and high (+++). In the cryopreservation success column (✓) means cryopreservation success, (-) means microalgae was able to be cryopreserved but cultures were unhealthy or subcultured.

MATERIALS & METHODS

The cryopreservation protocol for the controlled rate freezer consisted on adding cryoprotectant (Me₂SO 10% v/v or 15% v/v prepared doubled concentration) 1:1 to micro algae culture in 10 equivalent steps of 100 µl one minute apart. Keep in darkness for equilibration up to 30 minutes before freezing, meanwhile aspirate the micro algae into 0.25 ml straws, sealed them with PVC powder. Introduce them into the controlled rate freezer programmed to start holding 2 minutes at room temperature 20 °C, cool at 1 °C min⁻¹ to -10 °C, hold at -10 °C 1 minute and then cool at 3 °C min⁻¹ to -40 °C with a final hold at -40 °C 10 minutes before plunging into liquid nitrogen.

As for Mr Frosty methodology, CPA addition remains the same as for the controlled rate freezer, but after the 30 minutes in darkness for equilibration, vials were introduced into Mr Frosty and placed into a -80 °C freezer for two hours (predicted cooling rate of 1 °C min⁻¹) to finally transfer the vials to liquid nitrogen storage. Thawing was always performed into a 35 °C water bath, temperature controlled with a thermocouple. Then transferred 0.25 ml from each vial or one straw to an incubation vial at room temperature and dilute CPA in ten equivalent steps on 250 µl one minute apart with fresh culture medium (2.5 ml final). Leave to equilibrate in darkness for 5 minutes, add in a final step 5 ml of culture media and incubate in darkness for 12-24 hours. Further incubation in standard culture light conditions. Post-thawing recovery was assessed using in vivo fluorometry (Aqualifer from Turner designs) and culture density counts with a Neubauer haemocytometer on a Nikon microscope.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by ECIMAT, University of Vigo, FPU-MEC fellowship and took place as part of the "Microalgae Cryopreservation ECIMAT 2012". The authors acknowledge all participants in the workshop for their participation and contribution, especially to: Raquel Antares Algoriza (Physiology of Coimbra (ACO)); University of Coimbra (Portugal); Ana Maria Orens, Department of Microbiology and Parasitology, University of Santiago de Compostela, Pedro Seixas and José Peña, Aquagale S.L. company. www.aquagale.com and Maria Herra, Marine Ecology laboratory of the University of Vigo.

CONCLUSIONS

- 1.- All microalgae tested was able to be cryopreserved, although further research would be carried out with *Synechococcus* sp. and *Isochrysis aff. galbana* clone T-ISO in order to improve the quality of the obtained results.
- 2.- Successful cryopreservation was achieved with both methodologies without great differences but for *Rhodomonas lens* and *Chaetoceros gracilis* which yielded a better cryopreserved result while using the controlled freezer. Passive freezers are affordable by any lab and require little expertise to be handled approaching microalgae cryopreservation possibilities to many research facilities.
- 3.- No differences in survival were found after thawing between using 10% or 15% Me₂SO during cryopreservation.
- 4.- Measurements of fluorescence in vivo give us an indirect estimation of the health of the cultures after cryopreservation and along the incubation period. Valuable extra information taking into account that density counts of some microalgae is difficult due to the formation of chains, filaments or flocs.

Year	Species	Method	Success	Survival	Notes
1987	<i>Nannochloropsis gaditana</i>	Controlled rate freezer	++	++	Successful cryopreservation
1987	<i>Rhodomonas lens</i>	Controlled rate freezer	++	++	Successful cryopreservation
1987	<i>Cylindrotheca closterium</i>	Controlled rate freezer	++	++	Successful cryopreservation
1987	<i>Chaetoceros gracilis</i>	Controlled rate freezer	++	++	Successful cryopreservation
1987	<i>Synechococcus</i> sp.	Controlled rate freezer	++	++	Successful cryopreservation
1987	<i>Isochrysis aff. galbana</i>	Controlled rate freezer	++	++	Successful cryopreservation

Table 1. Microalgae culture conditions previous to cryopreservation. Success was measured with a Luximeter Neutec HD306, data converted according to Griesbach 1987

[1] Day JG, Brand JG (2005) Cryopreservation methods for maintaining microalgal cultures. In: Anderson RA (ed) Algal culturing techniques Elsevier Academic Press, London, pp 165-187.
 [2] Rhodes L, Smith J, Trevi R, Roberts R, Aderson J, Adams E, Decker M (2005) Cryopreservation of microalgae: a review of the current state of the art. *Journal of Applied Phycology* 21: 153-156.

Cuotas individuales transferibles de captura de la especie merluza (*Merluza hubbsi*) en el Sector Pesquero Artesanal de Argentina

Errazti¹ E., Bertolotti^{1, 2} M.I., Gualdoni¹ P., Pagani¹ A., Buono² J., Cassanelli² M.

¹Facultad de Ciencias Económicas y Sociales. Universidad Nacional de Mar del Plata (UN-MdP). Funes 3250, Mar del Plata, Argentina.

²Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo pesquero (INIDEP). Paseo Victoria Ocampo N°1 Escollera Norte, Mar del Plata, Argentina.

errazti@inidep.edu.ar

RESUMEN

La Actividad Pesquera Artesanal Marítima es toda actividad que se ejerce en forma personal, directa y habitual por pescadores y/o recolectores, realizada con embarcaciones menores o sin ellas y destinada a la captura, extracción y/o recolección de recursos vivos del mar. Por Resolución del Consejo Federal Pesquero (CFP) N° 10/09 se establece un porcentaje de la Captura Máxima Permisible (CPM) correspondiente a la Reserva Artesanal, que podrá ser capturado por las embarcaciones consideradas artesanales, para lo cual cada provincia con litoral marítimo debe establecer un Registro Provincial de la Pesca Artesanal y dichos registros integrarán el Registro Nacional de la Pesca Artesanal. En 2010 la Reserva Artesanal se fijó para la especie merluza común, stock al sur del paralelo 41° latitud Sur, en un 2,76 % de la CMP por ser la única especie cuotificada susceptible de ser capturada por los pescadores artesanales. Dentro de esta Reserva el sistema de pesca es abierto, no hay cuota asignada por barco ni jurisdicción, aunque está limitado por el número de barcos en el registro. Los permisos de pesca artesanales son entregados por cada una de las jurisdicciones con litoral marítimo en forma anual, por lo tanto el Registro Nacional de la Pesca Artesanal debe ser actualizado en forma periódica para que el sistema funcione eficazmente. En el año 2011 esta reserva resultó

ser insuficiente, dado que la flota artesanal capturó un 32% más de lo asignado. El 93% de la cuota fue pescado en la provincia de Santa Cruz, especialmente en el puerto de Caleta Olivia por la cercanía de esta flota al caladero. En el Sector Artesanal en el que participan gran número de pescadores dependientes de los recursos marinos locales para su sustento y que no tienen la capacidad necesaria para adquirir cuota, es importante evaluar el impacto social de la ordenación mediante CITC. El régimen establece cierta flexibilidad en cada provincia, a través de la Reserva Social, y en el ámbito nacional por las Reservas de Administración y Conservación.

PALABRAS CLAVE

Pesca artesanal, cuotas individuales transferibles, merluza.

INTRODUCCIÓN

La Ley 24.922, denominada Régimen Federal de Pesca (sancionada en diciembre de 1997 y promulgada por el Ejecutivo en enero de 1998) aplicó el modelo de cuotas individuales transferibles. A partir de la vigencia de esta ley se asigna una cuota de captura a cada permiso de pesca, tanto a los preexistentes como a los que se otorguen en el futuro o bien con las autorizaciones de capturas para aquellas especies que no se encuentren cuotificadas.

La Actividad Pesquera Artesanal Marítima o Pesca Artesanal Marítima es toda actividad que se ejerce en forma personal, directa y habitual por pescadores y/o recolectores, realizada con embarcaciones menores o sin ellas y destinada a la captura, extracción y/o recolección de recursos vivos del mar (Resolución del CFP N° 3/2000). La Ley 24.922 en su Art. 9 inciso k, determina que será función del Consejo Federal Pesquero reglamentar el ejercicio de la pesca artesanal estableciendo una reserva de cuota de pesca de las diferentes especies para ser asignadas a este sector. Por Resolución CFP N° 10/09 se establece un porcentaje de la CMP correspondiente a la Reserva Artesanal, que podrá ser capturado por las embarcaciones consideradas como artesanales, para lo cual cada provincia con litoral marítimo debe implementar un Registro Provincial de la Pesca Artesanal y dichos registros integrarán el Registro Nacional de la Pesca Artesanal.

El artículo 3 de Ley 24.922 establece que “son del dominio de las provincias con litoral marítimo para los fines de su exploración, explotación, conservación y administración los

recursos vivos que poblaren las aguas interiores y mar territorial argentino adyacente a sus costas, hasta las doce (12) millas marinas medidas desde las líneas de base que sean reconocidas por la legislación nacional pertinente; el artículo 4 expresa que son de dominio y jurisdicción exclusivos de la Nación, los recursos vivos marinos existentes en las aguas de la Zona Económica Exclusiva Argentina y en la plataforma continental argentina a partir de las doce (12) millas indicadas en el artículo anterior”.

En el caso argentino, el Estado provincial y/o el Nacional tienen el dominio de los recursos pesqueros (variable *stock*) que interpretado desde la Convención de los Derechos del Mar constituyen derechos de soberanía para los fines de exploración, explotación, conservación y ordenamiento de los recursos naturales vivos. Los derechos de uso en la forma de permisos y las cuotas, son los derechos que son asignados a los usuarios sobre la variable flujo (los pescados) (Bertolotti *et al.*, 2008).

La pesca artesanal, debido a sus características operativas se desarrolla en aguas de jurisdicción provincial, el acceso al caladero por parte de esta flota debe ser habilitado por cada provincia, por lo tanto resulta necesario contar con un permiso de pesca emitido por la autoridad provincial competente, pero para acceder a la reserva deben contar también con un permiso nacional. En 2010 esta Reserva Artesanal se fijó para la especie merluza común, *stock* del sur del paralelo 41°S, por tratarse de la única especie cuotificada y susceptible de ser capturada por los pescadores artesanales, considerando la participación en “función del área de distribución de la especie y las características que cada Provincia establece respecto de la flota artesanal que opera en su jurisdicción” (Acta CFP N° 49/2009).

El porcentaje correspondiente a la Reserva Artesanal se fijó en 2,76% de la CMP y quedó afectado a las capturas de los buques que se encuentran inscriptos en el Registro Nacional de la Pesca Artesanal. Dentro de esta Reserva el sistema de pesca es abierto, no hay cuota asignada por barco ni jurisdicción, aunque está limitado por el número de barcos en el registro. Para el resto de las especies, los permisos de pesca vigentes contienen la autorización para el ejercicio de la pesca con los límites contenidos en el permiso histórico de cada barco.

De acuerdo con lo establecido en el Régimen General (Resolución del CFP N° 10/09) se considera para el caso particular de merluza una Reserva Social como porcentaje de la CMP (27,07%) para ser asignado a los sectores de máximo interés social, el cual será determinado por cada jurisdicción provincial. El establecimiento de esta Reserva tiene como objetivo morigerar los efectos socioeconómicos que pueda producir la restricción de la captura de esta especie. La Reserva Social se distribuyó entre las siguientes competencias: Autoridad de Aplicación Ley 24.922 (12,45%), provincia de Buenos Aires (7,56%), provincia de Río Negro (1,03%), provincia de Chubut (4,31%) y provincia de Santa Cruz (1,72%).

MÉTODOS

Este trabajo es un estudio exploratorio-descriptivo, por lo tanto se trabajó con técnicas de comparación de la información; los datos se obtuvieron de los informes de gestión de los años 2010 y 2011, del Registro de Buques y datos de captura de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.

RESULTADOS

En el año 2010, participaron en la pesquería 18 buques capturando un 2% de la cuota asignada de merluza, en el año 2011 los buques artesanales se incrementaron a 24, pescando un 32% más de lo asignado (Tabla I). La diferencia en la cantidad de barcos que participaron de la pesquería en los años analizados se debe a que la flota artesanal debe renovar sus permisos provinciales en forma anual para ser incorporados al Registro Artesanal y actualizar el Registro Nacional.

A las capturas de la Reserva Artesanal de la provincia de Santa Cruz deben sumarse en el año 2010, 506,6 t correspondientes a desembarques de 3 barcos que no tuvieron asignación de cuota de la Reserva Artesanal, pero sí de la Reserva Social (56,6 t) y de 2 barcos que a su cuota artesanal se le adicionaron 450 t de cuota social. En el año 2011 un barco de la provincia de Chubut recibió cuota social (62,5 t) y uno de Santa Cruz, que además de su cuota artesanal sumó 300 t de cuota social (Tabla I).

Tabla I.- Captura de los buques artesanales de merluza común (*Merluccius hubbsi*) en comparación con la cuota asignada como Reserva Artesanal, en toneladas. Años 2010-2011.

Año	% CITC	Asignado (t)	Capturado (t)	Diferencia (t)	%	Captura Social (t)	Captura Total (t)
2010	2,76	8000	155,2	7844,8	2%	506,6	661,8
2011	2,76	7534,8	9937,7	-2402,9	132%	362,5	10300,2

En el año 2010 el 92% de la cuota asignada como Reserva, se pescó en la provincia de Santa Cruz, sobre el Golfo San Jorge, este porcentaje de participación en el año 2011 es del

99,8 %, correspondiendo al principal puerto Caleta Olivia 99,6% de la provincia (Fig. 1).

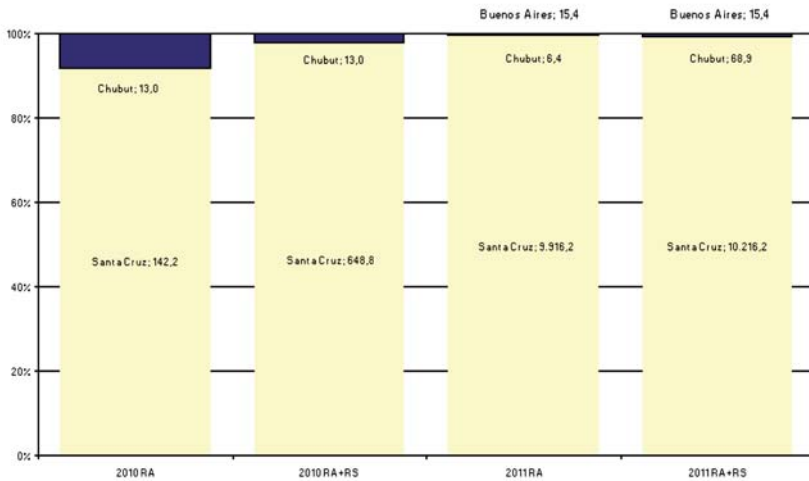


Figura 1.- Captura de la Reserva Artesanal (RA) y Social (RS) de merluza común (*Merluccius hubbsi*) en toneladas y en porcentaje de participación por jurisdicción provincial. Años 2010 y 2011.

En el golfo San Matías (provincias de Río Negro y Chubut) en el año 1996 se desarrolló la pesquería de merluza común con palangres, producto de alto valor comercial sobre todo en el mercado externo en el que se comercializa en estado fresco y desviscerado. En sus comienzos intervenían únicamente embarcaciones artesanales, incorporándose embarcaciones de mayor porte en años posteriores. La pesquería colapsó en el año 2001 por una caída del precio del producto recuperándose paulatinamente a partir del año 2002, actualmente se pesca a lo largo de todo el año, excepto en la época reproductiva de merluza (octubre-noviembre) y lo producido es enviado tanto al mercado externo como al interno (Elías *et al.*, 2004).

La costa de Santa Cruz tiene una extensión de casi 1.000 km de longitud, pero la pesca artesanal se desarrolla en unos pocos lugares ubicados en las proximidades de las localidades costeras de Caleta Olivia, Puerto Deseado, Puerto San Julián, Puerto Santa Cruz y Río Gallegos.

La flota artesanal con asiento en Caleta Olivia, provincia de Santa Cruz, presenta las mayores capturas de merluza debido a su cercanía al caladero, la Municipalidad de esta ciudad procederá a construir la obra destinada a albergar el mercado concentrador de la pesca artesanal, en un sector aledaño al Puerto Caleta Paula.

La flota artesanal de la provincia de Buenos Aires (con excepción de una embarcaciones con base en el puerto de Mar del Plata) y de Río Negro, no presenta registros de capturas debido a que no tienen accesibilidad al *stock* sur de merluza.

CONCLUSIONES

En el año 2010 se ejecutó en la Argentina el régimen de cuotas individuales transferibles de captura para la especie merluza, asignándose un porcentaje de la CMP (2,76%) como Reserva Artesanal para los barcos que se encuentren inscriptos en el Registro Artesanal. Durante 2011 esta reserva resultó ser insuficiente, dado que la flota artesanal capturó un 32% más de lo asignado.

En el Sector Artesanal en el que participan gran número de pescadores dependientes de los recursos marinos locales para su sustento y que no tienen la capacidad necesaria para adquirir cuota, es importante evaluar el impacto social de la ordenación mediante CITC. El régimen establece cierta flexibilidad en cada provincia, a través de la Reserva Social, y en el ámbito nacional por las Reservas de Administración y Conservación.

Los gobiernos municipales deberían participar a través de cada provincia en la elaboración de los planes de ordenación, dado que pueden lograr una mayor sensibilización en el plano local, pero para ello deberán contar con los conocimientos técnicos y especializados relacionados con la pesca y su integración en la ordenación costera.

REFERENCIAS

- Betolotti M.I, Errazti E., Gualdoni P., Pagani A. 2008. Principios de Política y Economía Pesquera. 1ª Ed., Dunken, Buenos Aires. 240 pp.
- Elías I., Carozza C., Di Giacomó E., Isla M., Orensanz J., Param A., Pereiro R., Perier M., Perrotta R., Ré M., Ruarte C. 2004. Perfil de pesquerías costeras de Latino América y El Caribe, Argentina. (ms)

Demanda de oxígeno por el pienso no consumido en piscicultura marina

Ruiz-Castrillón E., Forja J., Ponce R., Gómez-Parra A.

Dpto. Química-Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Campus Río San Pedro, s/n, 11510 Puerto Real, España.

esperanza.ruizcastrillon@alum.uca.es

RESUMEN

La producción global de la acuicultura se ha multiplicado por 40 desde 1970 y las previsiones actuales estiman que puede llegar a quintuplicarse en los próximos 50 años (Bosma y Verdegem, 2011). Por este motivo es necesario extremarse las precauciones con relación a la sostenibilidad de esta actividad, sobre todo para aquellas modalidades que tienen un mayor impacto ambiental o que se desarrollan en zonas especialmente sensibles desde un punto de vista ambiental. Este es el caso de la acuicultura en estanques que se practica en el Parque Natural de la Bahía de Cádiz (España), debido principalmente a los problemas que originan los aportes de materia orgánica que vierten. El objetivo de este trabajo es determinar la contribución del pienso no consumido en la acuicultura marina intensiva a la demanda de oxígeno que introduce esta actividad. El estudio se ha llevado a cabo en condiciones de simulación en laboratorio cubriendo el intervalo estacional de temperaturas habitual en la bahía de Cádiz. Se ha encontrado que, tras un periodo de latencia, la degradación aeróbica del pienso disgregado sigue una cinética de primer orden con respecto a la concentración de materia orgánica y con la presión parcial de oxígeno. Los valores de esta demanda de oxígeno se han extrapolado a distintos escenarios de producción piscícola en la bahía de Cádiz y se han comparado esos requerimientos con la evolución histórica que presenta las concentraciones de oxígeno en las aguas de la zona.

PALABRAS CLAVE

Acuicultura, demanda de oxígeno, pienso no consumido, vertidos residuales urbanos, materia orgánica.

INTRODUCCIÓN

La sostenibilidad ecológica de la acuicultura, como la mayoría de otros sistemas de producción de alimentos, se ve amenazada por una serie de riesgos. Los riesgos inherentes a la acuicultura son muy variados, entre otros: la ocupación del territorio, la alteración paisajística, la modificación de la fauna bentónica en las proximidades de la instalación, la contaminación química con productos terapéuticos y de limpieza, etc. De todos ellos tal vez el más importante sea la contaminación por los vertidos de materia orgánica.

En la naturaleza, los peces comen otros organismos con una composición bioquímica muy similar a ellos. La composición cruda bioquímica de un pez es variable, pero típicamente puede ser alrededor de 20 % de proteína, 1- 2 % de lípidos (aunque puede ser mucho más alto), 2 % de cenizas, 70 % de agua, 15 % de carbono, 3% de nitrógeno y 0,5 % de fósforo (Tantikitti *et al.*, 2005).

La fórmula del alimento del pescado es medida en función de las especies cultivadas y del sistema de cultivo en uso, y tiene una composición muy diferente a la presa natural. Los hidratos de carbono y lípidos, se incluyen en alimentos formulados para aumentar la eficiencia de retención de proteínas y reducir la producción de residuos de nitrógeno y de fósforo (Adron *et al.*, 1976, Ruhonen *et al.*, 1999, Hillestad *et al.*, 2001). Los peces requieren ácidos grasos esenciales de los lípidos, pero los peces no requieren carbohidratos en la dieta. Si los carbohidratos están excluidos de la comida, las proteínas y los lípidos de peces catabolizan la energía y los intermediarios metabólicos (Wilson, 1994).

La tasa de liberación de nutrientes de los desechos de la acuicultura intensiva puede ser estimada por balance de masas basado en la información estadística sobre la utilización de piensos y la producción de pescado, junto con información sobre las pérdidas de alimento, el contenido de N y P en el alimento y los peces, y la eficiencia de asimilación de los distintos componentes del pienso.

El N y P no son tóxicos, pero los elementos biogénicos son potencialmente perjudiciales en el medio marino solamente si su oferta supera a la capacidad de asimilación de los ecosistemas. Todos los ecosistemas tienen una capacidad inherente de persistencia y pequeños cambios en el suministro de nutrientes viéndose mitigados a través de las respuestas de adaptación de las comunidades. La comprensión científica de los procesos e impactos en los ecosistemas bentónicos están bien desarrollados, pero este no es el caso de los ecosistemas pelágicos.

El principal limitante en la producción de estanque es la disponibilidad de oxígeno. El oxígeno es necesario para la respiración de los peces, la descomposición de los residuos y la respiración de las algas. Parte de la producción primaria está disponible para el crecimiento de los peces. La adición de la alimentación al estanque aumenta la demanda de oxígeno. La demanda química de oxígeno (DQO) de 1 kg de material de alimentación es de aproximadamente 1400 g O₂. Alrededor del 45% de la DQO de alimentación se mantiene en el pescado y se cosecha como ganancia de pescado (Heinsbroek *et al.*, 1990). El 55% restante de la DQO total consiste en pérdidas no fecales (que incluye respiración de los peces) y pérdida fecal, y necesita ser proporcionado al estanque. Suponiendo una conversión del pienso de 1,5, aproximadamente un tercio es para la respiración de los peces, y dos tercios para la degradación de los residuos (Verdegem *et al.*, 2007).

En base a estos antecedentes, se proyecta este trabajo de investigación cuyos objetivos pueden enunciarse de manera genérica como:

1. Estimar el efecto de los vertidos de materia orgánica sobre el grado de hipoxia en el Parque Natural de la Bahía de Cádiz, tratando de discriminar entre el originado por vertidos residuales urbanos y por la práctica de la acuicultura marina intensiva.
2. Determinar la evolución histórica reciente que han experimentado las concentraciones de oxígeno en las aguas de la zona en base a la comparación de los niveles medidos en la actualidad con los que están recogidos en la bibliografía.
3. Proponer un modelo conceptual para calcular la demanda de oxígeno provocada por los excedentes de pienso no consumido en la acuicultura intensiva, a partir de la composición elemental de pienso y pez y según distintos escenarios de producción piscícola en el Parque Natural (densidad de cultivo, superficie afectada y ciclo de producción).

MATERIALES Y MÉTODOS

DESCRIPCIÓN DE LA ZONA OBJETO DE ESTUDIO

La bahía de Cádiz tiene una larga tradición piscícola cuyas densidades de cultivo han aumentado de manera progresiva desde los años ochenta. Esta actividad se desarrolla en el seno de un Parque Natural en la que coexiste con un complejo entramado de núcleos de población e infraestructuras de distinta naturaleza. En consecuencia, la pervivencia de esta modalidad de acuicultura pasa por limitar los efluentes residuales urbanos e industriales que recibe la zona y por gestionar adecuadamente los que generan la acuicultura.

Se han seleccionado para su estudio tres subzonas dentro del Parque Natural y sus alrededores: 1) Caño de Sancti Petri, que recibe vertidos residuales urbanos y procedentes de la acuicultura, 2) Río San Pedro, cuyas entradas de materia orgánica proceden de manera casi exclusiva de la acuicultura, y 3) Estuario del Guadalete, en el que los aportes orgánicos están provocados exclusivamente por efluentes residuales urbanos (Fig. 1). En su elección se tuvieron en cuenta principalmente dos factores: i) que permitieran una evaluación homogénea de las zonas estudiadas y ii) que estuvieran en las proximidades de lugares de un interés especial en lo que respecta a la entrada en el sistema de materia orgánica.



Figura 1.- Mapa de la Bahía de Cádiz, con las tres zonas de estudios. Zona 1: Caño Sancti Petri con sus 11 puntos de muestreo. Zona 2: Río San Pedro, donde se tomó datos de 9 estaciones. Zona 3: Estuario del río Guadalete, donde se seleccionaron 8 estaciones de muestreo.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

1. Medida del oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto de las muestras de agua se determinó mediante una adaptación del método iodométrico tradicional de Winkler (Carpenter, 1965), descrito por Grasshoff (1983). Este procedimiento, posee una precisión de $\pm 0.003 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y un límite de detección de $0.005 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para la toma de muestra se emplearon frascos Winkler de 250 mL aproximadamente y la fijación del oxígeno disuelto contenido en las muestras se realizó inmediatamente después de su obtención. Las muestras fijadas permanecieron en oscuridad unas 24 horas hasta su análisis.

La valoración potenciométrica del I_2 producido tras la acidificación con H_2SO_4 se llevó a cabo sobre una alícuota que se cuantificó por pesada, usando un autovalorador 702 SM titrino (Metrohm GmbH & Co.), provisto de una bureta automática de 10 mL para la adición del tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$). La valoración se realizó a punto final (100 mV) utilizando un electrodo de medida, de Pt combinado y uno de Ag/AgCl como referencia. El volumen de equivalencia se obtuvo por medio del programa tiamo (Metrohm GmbH & Co)

2. Demanda de oxígeno para la oxidación de un pienso usado en acuicultura

La medida del consumo de oxígeno por la procedencia de pienso en el agua se realizó manteniendo en suspensión una determinada cantidad del mismo en agua de mar. Se utilizó un pienso de la casa Skretting denominado Élite LE-5 molido en un molino de bolas de óxido de zirconio (FRITSCH) durante 30 minutos a 450 rpm. El agua de mar se tomó en marea creciente a la altura de la estación 2 del río San Pedro, con anterioridad a su uso se le adicionó un inóculo constituido por 1 mL de una suspensión de sedimento (3 gramos de sedimento en 50 mL de agua) en todos los casos se realizaron ensayos en blanco con objeto de determinar la demanda de oxígeno del material disuelto y en suspensión ajenos al pienso. Para la medida de la demanda de oxígeno se ensayaron tres procedimientos: *Oximetría*, *Determinación respirométrica de la D. B. O.* y *por medio de una adaptación a mayor escala del procedimiento del oxitop*.

3. Composición elemental del pienso y porcentaje de ceniza

Los contenidos en C, H, N y S del pienso se midieron por medio de un analizador elemental Leco 932 a escala micro usando 10 replicados. La medida de la concentración de P orgánico se hizo por quintuplicado tras digerir por vía ácida una muestra en un digestor Speed Wave Four de la casa Berghof. La medida se realizó por ICP-AES.

EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL

Para la estimación del impacto ambiental que supone la degradación de la materia orgánica que entra en el sistema a través de los vertidos residuales urbanos y procedentes de la acuicultura se ha aplicado el procedimiento propuesto por Algarra y Niell (1985). Y relaciona la perturbación y la variación que experimenta una variable del sistema, en este caso la concentración de oxígeno disuelto.

Se considera que el sistema no está perturbado cuando la concentración de oxígeno es igual a la de saturación. Debe tenerse en cuenta que en el agua que entra en los sistemas estudiados, no se produce una sobresaturación. La intensidad del impacto se hace corresponder con la magnitud de la separación a la saturación de las aguas del sistema.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Puede hacerse una estimación aproximada de la cantidad de materia orgánica excedentaria de pienso no consumido por medio de un balance de materia que tenga en cuenta las composiciones bioquímicas de pienso y pez (Tabla I) y el índice de conversión (1,5 kg pienso/kg pez).

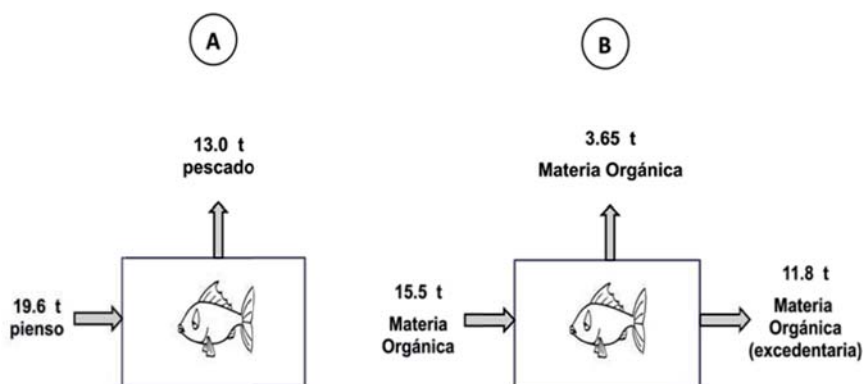


Figura 2.- A) Supuesto para la producción intensiva de dorada en la Bahía de Cádiz sobre la base de una hectárea de cultivo, un año de producción y un índice de conversión de 1.5. B) balance de materia orgánica (como suma de proteínas, lípidos y carbohidratos) resultante del supuesto anterior (ver Tabla I).

Tabla I.- composición bioquímica del pienso y del pez.

% en peso	Pez	Pienso
Proteínas	20	43
Grasas	5	17
Carbohidratos	3	19
Cenizas	2	14
Agua	70	7

Estos excedentes de materia orgánica requerirían un consumo de O₂ para su degradación aeróbica que puede calcularse por medio de la ecuación:

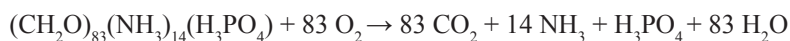


Tabla II.- Diferentes supuestos para la aplicación de la piscicultura marina utilizados para el cálculo del consumo de oxígeno por sus efluentes. Se considera un periodo de cultivo de un año. Resultados en figura 3.

Supuesto	Densidad de cultivo*	Superficie empleada**
1	2	1
2	5	10
3	2	100
4	5	100
5	400	2
6	800	2
7	400	5
8	800	5

*(kg pienso / kg pez)

** ha

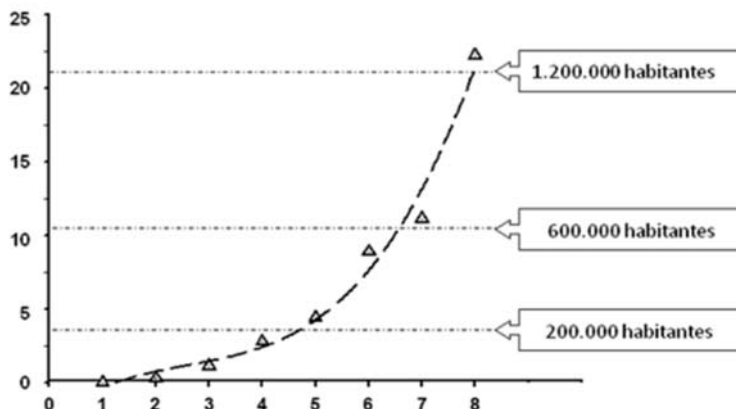


Figura 3.- Demanda de oxígeno derivados de la acuicultura intensiva de doradas en la Bahía de Cádiz en ocho supuestos diferentes (escenarios) de cultivo según la densidad de cultivo y la superficie de marisma utilizada. Las líneas de trazo horizontal indican las cantidades de oxígeno requeridas para la depuración biológica (DBO_{20}) de los vertidos urbanos residuales de las poblaciones indicadas. (En la tabla II se indican para los detalles de los escenarios 1 a 8).

Esta valoración del riesgo de los efluentes de la acuicultura realizada en este trabajo es muy simplista ya que hay numerosas cuestiones que no se han tenido en cuenta, como por ejemplo: la emisión de heces por los organismos cultivados, hay una cantidad de oxígeno que se consume en la generación de energía cinética de los peces, parte de la materia orgánica queda retenida en los estanques de cultivo y puede ser retirada de manera mecánica, etc. No obstante esta valoración, de índole extensiva de la contaminación que produce la acuicultura, debe ser tenida en cuenta conjuntamente con las consideraciones de naturaleza intensiva que pueden hacerse de esta actividad.

DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LA CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO DISUELTOS EN LOS SISTEMAS ESTUDIADOS

En la figura 4 se muestra la evolución de la concentración de oxígeno disuelto a lo largo del cauce en el estuario del Guadalete y en el río San Pedro. En lo que respecta al primero de ellos, puede observarse una tendencia a disminuir la concentración a medida que las

estaciones están situadas más arriba del cauce. Como excepción, se han encontrado valores excepcionalmente altos en las estaciones 5 y 6, que deben relacionarse con los aportes de agua más oxigenada que recibe el río a través de los canales de drenaje de los regadíos de su margen derecha y de las marismas de su margen izquierda.. La concentración más baja de oxígeno se ha encontrado en la estación 8, en las inmediaciones del azud por el que acceden al estuario las aguas residuales procedentes de la depuradora de Jerez. No se han encontrado datos publicados de las concentraciones de oxígeno medidas con anterioridad a este trabajo.

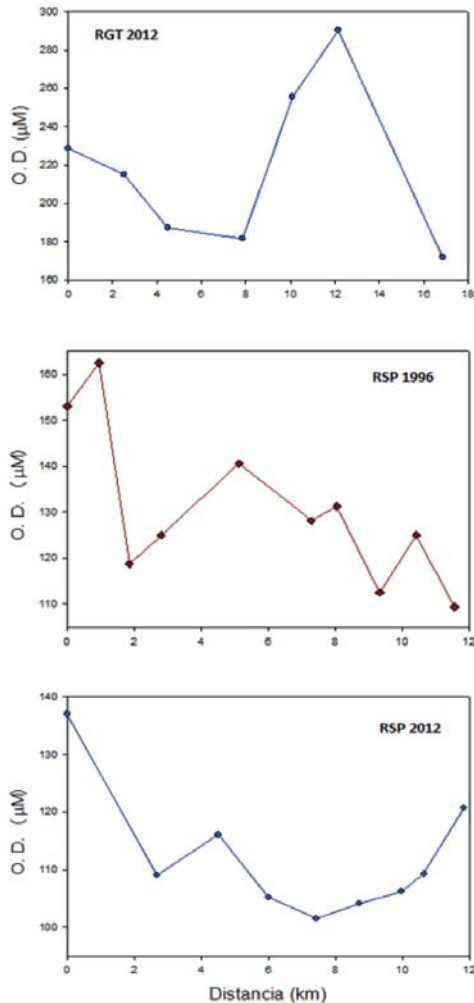


Figura 4.- Representación del oxígeno disuelto (μM) del estuario del río Guadalete medido en el año 2012, y del río San Pedro en el año 1992 y 2012.

En la misma figura 5 se muestra también la variación de la concentración en el tramo estudiado del río san Pedro. La tendencia es similar a la encontrada en el caso anterior, aunque los valores más bajos se distribuyen por las proximidades del efluente de la piscifactoría construida en la antigua salina de San Jaime. Se aprecia también una elevación del contenido en oxígeno agua arriba de ese lugar, como consecuencia del aporte de aguas más oxigenadas procedentes de la cabecera de estuario.

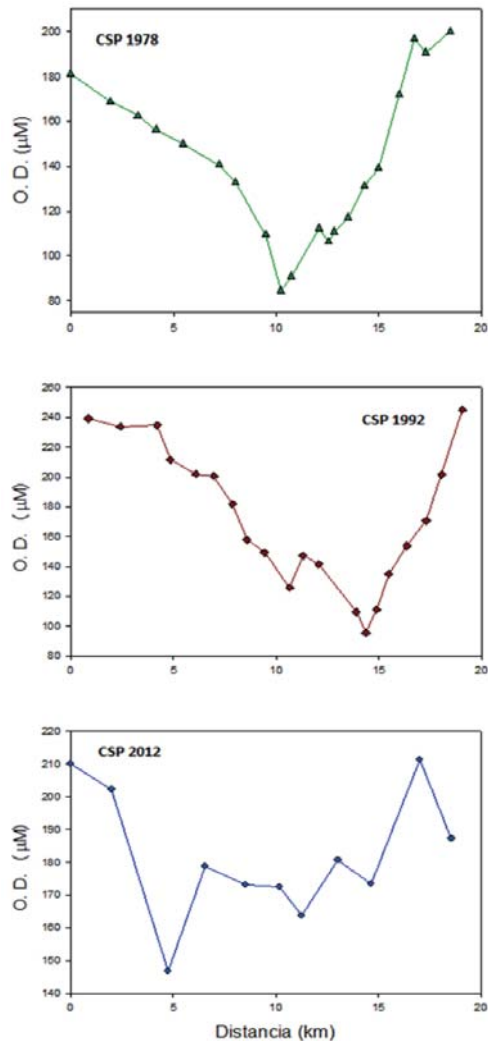


Figura 5.- Representación del oxígeno disuelto (μM) del caño de Sancti Petri medido en el año 1978, 1992 y 2012, respectivamente.

Para el río San Pedro se dispone de los datos obtenidos en 1996 que se indican también en la figura 4. En este caso la evolución del oxígeno es similar, aunque los valores no son tan bajos como los que se han medido en la actualidad.

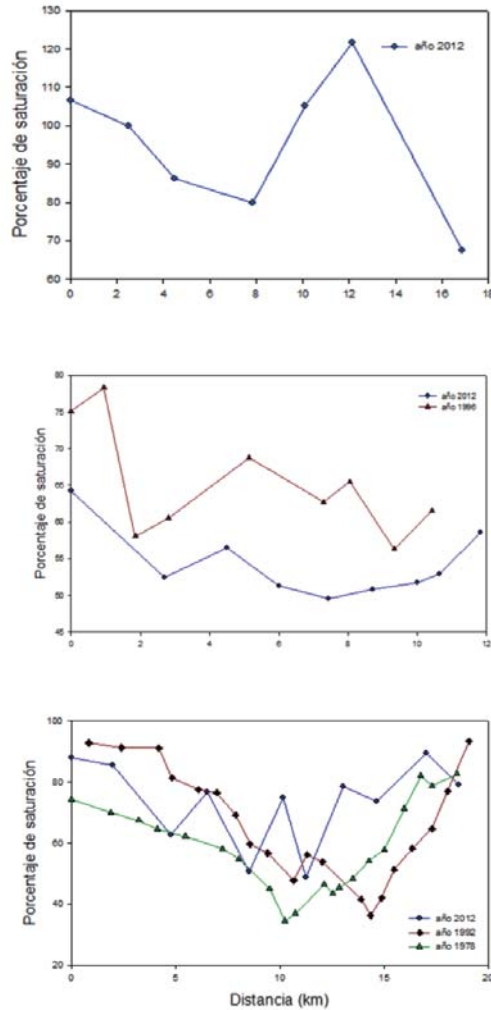


Figura 6.- Representación del porcentaje de saturación del oxígeno

La variación longitudinal de la concentración en el caño de Sancti Petri se indica en la figura 5. En este caso, se dispone de dos situaciones de referencia como consecuencia de los estudio que se realizaron en los años 1977-78 y 1991-92, respectivamente (Gonzalez-Mazo, 1994). En la figura 6 se indican también las variaciones encontradas en muestreos realizados

en esas fechas con un horario y con unas condiciones de marea similares a los de este trabajo. En la actualidad se ha encontrado que, si bien se produce una ligera disminución en los niveles de oxígeno en la parte central del caño, las diferencias entre las distintas zonas no son muy acusadas en comparación con las observadas en años anteriores.

En este caso las diferencias entre estaciones consecutivas son muy altas y están motivadas, al haberse realizado el muestreo en bajamar, por el vertido al caño de las aguas de los esteros y piscifactorías de la zona. Este vertido se realiza a través de compuertas que se accionan manualmente la hora en que se abren, la duración de la apertura y el caudal de vertido dependen de cada capataz de la instalación, por lo que el efecto de los vertidos sobre el cauce receptor son imprevisibles.

En los muestreos realizados en los años 1978 y 1992 la situación era sustancialmente diferente. En ambos casos existía una zona con una fuerte anoxia en la parte central del caño, cuya intensidad disminuía progresivamente a medida que las estaciones muestreadas estaban más próximas a la desembocadura del cauce en la Bahía de Cádiz y, sobre todo, en el Océano Atlántico. Esta situación estaba provocada por la existencia de los efluentes residuales urbanos de la ciudad de San Fernando. El vertido de estos efluentes de una población cercana a los 100,000 habitantes se producía sin ningún tipo de depuración previa y precisamente en la zona central del caño, que es donde confluyen las ondas de marea que penetran desde la bahía y el Atlántico. La diferencia principal de la concentración de oxígeno en esos años estriba en el lugar donde se detectan los mínimos de concentración, que está provocada por la modificación que sufrió la localización de los emisarios de las aguas residuales (desde el caño de Zaporito hasta el puente Zuazo).

CONCLUSIONES

La demanda de oxígeno que generan los vertidos de los efluentes de las poblaciones ribereñas ha disminuido de manera muy notable en las últimas décadas, como consecuencia de la mejora de las redes de saneamiento y la eficiencia de la depuración de las aguas residuales urbanas.

En ese sentido podría sugerirse que un desarrollo generalizado de las instalaciones acuícola en el Parque Natural vaya acompañado de la implantación de un plan de seguimiento y control de la calidad ambiental de la zona, atendiendo no solo a los niveles de hipoxia y concentración de nutrientes, sino que incluya el análisis específico de determinados

contaminantes diana.

Así, como estrategia, dentro de la línea de la implantación de una acuicultura sostenible, deberían contemplarse aspectos en el diseño de las granjas acuícolas que minimicen los vertidos de materia orgánica y nutrientes.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el proyecto CICYT(CTM 2011-27891).

BIBLIOGRAFÍA

- Adron, J. W., Blair, A., Cowey, C. B. y Shanks, A. M., 1976. Effects of dietary energy level and dietary energy source on growth, feed conversion and body composition of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) *Aquaculture* 7: 125-132.
- Algarra, P. y Niell, F. X., 1985. Gradientes pigmentarios en sistemas marinos sometidos a efluentes contaminantes. *Investigaciones Pesqueras* 49(1): 107-119.
- Bosma, R. y Verdegem, M., 2011. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. *Livestock Science* 139 pp 58-68.
- Carpenter, J. H., 1965. The Chesapeake Bay Institute technique for the winkler dissolved oxygen method. *Limnol. Oceanogr.* 10: 141-143.
- COM (2002) 511 FINAL. Evaluation of the impact of “A strategy for the sustainable development of European aquaculture”.
- González-Mazo, E. 1994. Comportamiento de alquilbenceno lineal sulfonatos (LAS) en sistemas litorales del Golfo de Cádiz. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz.
- Grasshoff, K., Ehrhardt, M. y Kemling, K., 1983. Methods of seawater analysis. 2nd, rew. And extended ed. Verlag-Chemie, Weinheim Germany.
- Heinsbroek, L. T. N., Thoor, R. M. H. y Elizondo, L. J., 1990. The effect of feeding level on the apparent digestibilities of nutrients and energy of a reference diet for the European eel, *Anguilla Anguilla* L.. and the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). In: Takeda, M., Watanabe, T. (eds.). The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture. Proc third international symposium on feeding and nutrition in fish.

- August 28 – September 1, 1989, pp. 175-188. Toba, Japan.
- Hillestad, M., Johnsen, F. y Asgard, T., 2001. Protein to carbohydrate ratio in high-energy diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Aquaculture Research* 32: 517-529.
- Ruhonen, K., Vielma, J. y Grove, D. J. 1999. Low-protein supplement increases protein retention and reduces the amounts of nitrogen and phosphorus wasted by rainbow trout fed on low-fat herring. *Aquaculture Nutrition* 5: 83-91.
- Tantikitti, C., Sangpong, W. y Chiavareesajja, S., 2005. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture* 248: 41-50.
- Verdegem, M. C. J., 2007. Nutrient balance in ponds. In: Van der Zijpp, A. J., Verreth, J. A. J., Le Quang, Tri, van Mensvoort, M. E. F., Bosma, R. H., Beveridge, M. C. M. (eds) *Fish ponds in farming Systems*. Wageningen Academic Publishers, pp. 71-79.
- Wilson R. P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124: 67-80.
- Winkler, L. W., 1888. The determination of dissolved oxygen in water. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 21, pp. 2843-2857.



DEMANDA DE OXÍGENO POR EL PIENSO NO CONSUMIDO EN PISCICULTURA MARINA

Ruiz-Castrillón, E., Forja, J., Ponce, R. y Gómez-Parra, A.

Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Campus rio San Pedro s/n, 11510 Puerto Real (Cádiz) Spain.



1. INTRODUCCIÓN

La producción global de la acuicultura se ha multiplicado por 40 desde 1970 y las previsiones actuales estiman que puede llegar a quintuplicarse en los próximos 50 años (Bosma y Verdegem, 2011). Esta progresión hace necesaria que deban extremarse las precauciones con relación a la sostenibilidad de esta actividad.

El objetivo principal de este trabajo es establecer la contribución de los excedentes de pienso no consumido a la demanda de oxígeno que ejerce en la zona costera la acuicultura marina intensiva.

Los valores de esta demanda de oxígeno se han extrapolado a distintos supuestos de volumen de producción piscícola en la bahía de Cádiz y se han comparado esos requerimientos con la evolución histórica que presentan los niveles de hipoxia que tradicionalmente soporta la zona.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción de la zona de estudio

La bahía de Cádiz tiene una larga tradición piscícola cuyos densidades de cultivo han aumentado de manera progresiva desde los años ochenta. Esta actividad se desarrolla en el seno de un Parque Natural en la que coexiste con un complejo entramado de núcleos de población e infraestructuras de distinta naturaleza. En consecuencia, la presencia de esta modalidad de acuicultura para por limitar los afluentes residuales urbanos e industriales que recibe la zona y por extenderse adensadamente los que generan la acuicultura.



Se han seleccionado para su estudio tres subzonas dentro del Parque Natural y sus alrededores: 1) Caño de Sancti Petri, que recibe vertidos residuales urbanos y procedentes de la acuicultura, 2) Río San Pedro, cuyas entradas de materia orgánica proceden de manera casi exclusiva de la acuicultura, y 3) Estuario del Guadalete, en el que los aportes orgánicos están provocados exclusivamente por efluentes residuales urbanos.

Métodos de Análisis

Mérida de oxígeno disuelto y Demanda de oxígeno para la oxidación de la materia orgánica (pienso) Método de Winkler con valoración potenciométrica y Determinación respirométrica de la DBO (O₂log₂)

Composición elemental del pienso: CHN Leco 932 y ICP-ASS



Evaluación del impacto ambiental

Para la estimación del impacto ambiental que supone la degradación de la materia orgánica que entra en el sistema a través de los vertidos residuales urbanos y procedentes de la acuicultura se ha aplicado el procedimiento propuesto por Algarra y Niell (1985). El procedimiento se basa en establecer una relación entre la perturbación y la variación que experimenta una variable del sistema, en este caso la concentración de oxígeno disuelto. Se considera que el sistema no está perturbado cuando la concentración de oxígeno es igual a la de saturación. Debe tenerse en cuenta que en el agua que entra en los sistemas estudiados, tanto de la bahía de Cádiz como del Atlántico no se produce una sobresaturación, la intensidad del impacto se hace corresponden con la magnitud de la separación a la saturación de las aguas del sistema.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Puede hacerse una estimación aproximada de la cantidad de materia orgánica excedentaria de pienso no consumido por medio de un balance de materia que tenga en cuenta las composiciones bioquímicas de pienso y pez (tabla 1) y el índice de conversión (1,5 kg pienso/kg pez)

	% en pienso	Pez	Pienso
Proteínas	36	45	
Grasas	9	17	
Carbohidratos	3	16	
Cenizas	2	14	
Agua	40	7	

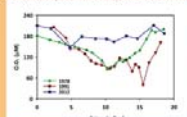
Figura 1: Supuesto para el balance de materia orgánica.



Estos excedentes de materia orgánica requieren un consumo de O₂ para su degradación aeróbica que puede calcularse por medio de la ecuación: $(CH_2)_x(NH_2)_y(H_2PO_4) + 83 O_2 \rightarrow 83 CO_2 + 14 NH_3 + H_2PO_4 + 83 H_2O$

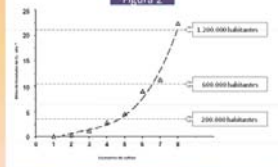
A modo de ejemplo se muestra la evolución temporal que ha experimentado la concentración de oxígeno disuelto a lo largo del caño de Sancti Petri (en situaciones similares de marea). Puede observarse que los valores medios y la concentración disminuyeron desde 1979 hasta 1992, coincidiendo con el aumento de los vertidos de San Fernando y la implantación de la acuicultura intensiva en la zona. Posteriormente (2012) los niveles de oxígeno aumentaron en el caño de Sancti Petri ligeramente como consecuencia de la supresión de esos vertidos.

Evolución del oxígeno disuelto a lo largo del caño de Sancti Petri



Una valoración semicuantitativa del impacto en esa misma zona de los aportes de materia orgánica, tomando la situación de 1978 como la inicial, sería: Impacto (1992)=0,7641; Impacto (2012)=0,7485

Figura 2



En la figura 2 se comparan con requerimientos de O₂ para la deposición de las aguas residuales urbanas diversos supuestos de cultivo (hasta 800 ha, un 10% de la superficie de marisma del Parque Nacional) y hasta el límite autorizado para el cultivo (50 kg m⁻²).

4. BIBLIOGRAFÍA

- Algarra, F. y Niell, F. X., 1985. Gradientes pigmentarios en sistemas marinos sometidos a efluentes contaminantes. *Inv. Pesq.* 49(1) pp: 107-115.
- Bosma, R., Verdegem, M., 2011. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. *Livestock Science* 139 pp: 58-68.
- Tandikitt, C., Sangpong, W., Chivareesajja, S., 2005. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lateo calcarifer*). *Aquaculture* 246 pp: 41-50.

5. AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el proyecto OCYT (CTM 2011-27891)

Diseño, desarrollo y fabricación de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio como elemento clave en la investigación oceanográfica

Toribio A., Barro S., García S., Aguirre E.

Aquatic BioTechnology S.L. C/ Académico Juan Luis Roche 18. 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, España.

info@aquaticbiotechnology.com

RESUMEN

La investigación oceanográfica centra su actividad en un medio tan complejo y diverso como el mar, esta investigación se realiza a través de la aproximación que se plantean las distintas disciplinas científicas como la biología, la física, la química o la geología. Según el enfoque que se le quiera dar a cada estudio oceanográfico se utilizará un tipo de instrumental, que también variará en función de los parámetros que se quieran medir. El trabajo en el medio marino tiene una serie de limitaciones, ya sea por las condiciones ambientales (meteorología, particularidades del medio acuático) o por las dificultades que entraña el trabajo en el medio acuático en cuanto a operabilidad de los aparatos y equipos que deben utilizarse. Es por ello que la labor oceanográfica necesita que los equipos oceanográficos y el instrumental de laboratorio que se utiliza sean muy específicos de forma que contribuyan a trabajar de una manera eficiente en el medio marino y en el laboratorio; también es fundamental que el desarrollo de estos equipos esté adecuado a las necesidades reales de experimentación, siendo importante diseñar, desarrollar y fabricar estos equipos en base a la experiencia obtenida en el manejo de los mismos y cubriendo las necesidades detectadas en el campo de la oceanografía. Por ello es vital mantener una comunicación activa con instituciones relacionadas con la investigación marina y en este trabajo mostramos los resultados de nuestra colaboración con la Universidad de Cádiz (UCA), el Instituto Español de Oceanografía (IEO) y el

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), que nos ha permitido crear equipos altamente eficaces que se reflejan en la calidad y fiabilidad de las medidas obtenidas y en la practicidad de su uso. En particular se muestran los avances más significativos en el diseño de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio como los colectores de plancton, la “choice chamber” o cámara de elección, el patín epibentónico, o los ictiómetros y que han supuesto un importante cambio cualitativo y cuantitativo en la forma de trabajar y de obtener respuestas, acordes a las necesidades reales de los investigadores.

PALABRAS CLAVE

Equipos oceanográficos, instrumental de laboratorio, investigación oceanográfica.

INTRODUCCIÓN

El mar es un elemento clave para nuestro futuro, por eso la investigación y conservación de sus ecosistemas es de vital importancia y nos permite tomar medidas adecuadas de protección sobre la biodiversidad marina, la cual además de aportar valores culturales, contribuye en la lucha contra el cambio climático y es parte importante del ámbito económico y social.

Son muchas las instituciones, empresas y organismos dedicados a investigar el estado de los mares y océanos con el firme objetivo de garantizar un uso sostenible de los recursos en el ecosistema marino.

La investigación oceanográfica centra su actividad en un medio tan complejo y diverso como el mar, esta investigación se realiza a través de la aproximación que se plantean las distintas disciplinas científicas como la biología, la física, la química o la geología.

Desde los principios de la investigación oceanográfica los investigadores han sabido adaptar o desarrollar sus propios instrumentos para poder llevar a cabo su trabajo en el mar, este hecho ha conseguido que la oceanografía se haya convertido en un campo donde la innovación y la adaptación sean dos premisas fundamentales.

El trabajo en el medio marino tiene una serie de limitaciones, ya sea por las condiciones ambientales (meteorología, particularidades del medio acuático) o por las dificultades que

entraña el trabajo en dicho medio en cuanto a operabilidad de los aparatos y equipos que deben utilizarse. Este trabajo implica que tengamos que disponer a menudo de los medios necesarios para llegar hasta las zonas de muestreo, pudiendo convertirse en un factor limitante para el correcto diseño de las campañas y muestreos debido al elevado coste que estos conllevan. Cuando estos gastos están asociados a la utilización de algún tipo de embarcación o buque oceanográfico, los investigadores jefes de campaña han de desarrollar planes de campaña muy precisos que incluyan planes alternativos en caso de que surjan contratiempos, muy comunes en este tipo de entorno. Esto hace que el ahorro de tiempo en una campaña oceanográfica sea primordial, lo que implica recoger las muestras en el menor tiempo posible y así garantizar la sinopticidad del muestreo. Para ello la oceanografía está en continua innovación para poder recoger la máxima información del medio, desarrollando cada día nuevos equipos optimizados para estas condiciones, que ahorren tiempo y recojan datos o muestras de manera eficiente.

En este contexto, y teniendo en cuenta que la labor oceanográfica necesita de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio muy específicos y adaptados a las necesidades detectadas en el campo de la oceanografía, la empresa Aquatic BioTechnology diseña, desarrolla y fabrica este tipo de productos en base a la experiencia obtenida y colaborando activamente con instituciones ligadas a la investigación oceanográfica como son: la Universidad de Cádiz, el Instituto Español de Oceanografía y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Esto ha permitido crear equipos altamente eficaces que se reflejan en la calidad y fiabilidad de las medidas obtenidas y en la practicidad de su uso.

COLABORACIÓN ENTRE INSTITUCIONES Y EMPRESAS EN EL DISEÑO Y DESARROLLO DE EQUIPOS OCEANOGRÁFICOS E INSTRUMENTAL DE LABORATORIO

Una de las claves más importante para el éxito en el diseño, desarrollo y fabricación de equipamiento oceanográfico y de laboratorio es la colaboración de las empresas con distintos organismos e instituciones científicas que basen su actividad en la investigación oceanográfica. En nuestro caso esta colaboración se lleva a cabo con la Universidad de Cádiz y el Instituto Español de Oceanografía, la cual es fundamental para la evolución de los equipos e instrumental existentes y el desarrollo de nuevos productos.

Esta colaboración y comunicación activa hacen que el trabajo en conjunto entre empresa

e instituciones, den como resultado equipos con un alto valor añadido debido a la experiencia y conocimientos específicos que estas poseen. Gracias a la experiencia acumulada en diferentes muestreos y campañas oceanográficas, estas instituciones disponen del conocimiento en cuanto a las necesidades que exige el día a día, tanto en el trabajo de campo como en el trabajo de laboratorio, así como de las carencias que detectan en los equipos utilizados. Este conocimiento es de gran valor, y permite que empresas privadas, como Aquatic BioTechnology, puedan cubrir fácilmente las necesidades y carencias detectadas gracias al ingenio y conocimiento específico en cuanto al transformado de materias primas y la adaptación de productos estandarizados.

RESULTADOS DE NUESTRAS PRIMERAS COLABORACIONES

A día de hoy, fruto de nuestra experiencia y colaboraciones comentadas, hemos diseñado y fabricado equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio como los colectores de plancton, la “*choice chamber*” o cámara de elección, el patín epibentónico, las cámaras de sedimentación y los ictiómetros entre otros, y que han supuesto un importante cambio cualitativo y cuantitativo en la forma de trabajar y de obtener respuestas, acordes a las necesidades reales de los investigadores.

Con el fin de destacar la importancia de las colaboraciones y de la experiencia en el proceso de diseño, desarrollo y fabricación de los equipos comentados, nos centraremos en uno de los equipos desarrollados por Aquatic BioTechnology como es el colector de plancton.

El colector de plancton es el recipiente que está situado al final de una red de plancton, donde se depositan los organismos planctónicos colectados. Hay muchos modelos de colectores, el más primitivo se trata de un simple frasco acoplado a la red, pero los más utilizados son fabricados en materiales plásticos y están compuestos por dos partes: la primera fijada a la red por una abrazadera y la segunda que se desacopla de la primera por medio de una rosca o enganches para así manipularla y poder recoger la muestra. Algunos llevan en la segunda parte un grifo o tubo terminal para facilitar el trasvasado de la muestra, pero frecuentemente se ve obstruido por animales gelatinosos o con un exoesqueleto complejo, lo que imposibilita su funcionamiento y operabilidad. También están provistos de aperturas laterales cubiertas con malla para reducir el volumen de la muestra y facilitar su manejo. Estas mallas suelen ser fijas, pegadas con pegamento desde el interior o exterior, lo que inutiliza el colector en caso de rotura o deterioro de la malla. Los colectores con malla en el fondo o bolsa de malla

no son recomendables por el deterioro que sufre la muestra recolectada, ocasionado por la presión contra la malla en la pesca o por la manipulación que conlleva para extraer la misma, siendo posible que este deterioro pueda dificultar la correcta identificación de los organismos (Tranter, 1968; Boltovskoy, 1981).

Tras la colaboración establecida entre Aquatic BioTechnology con el Centro Oceanográfico de Cádiz del Instituto Español de Oceanografía y el Departamento de Biología de la Universidad de Cádiz, se plantearon las necesidades y carencias que este equipo sufría en el trabajo del día a día en las campañas oceanográficas. Una vez establecidas las carencias y necesidades, se diseñó y desarrolló un nuevo colector de plancton que las cubriera. Para ello, se determinaron los requisitos que debía cumplir el colector, y se fabricaron de forma paralela dos prototipos, uno aprovechando piezas de PVC estandarizadas y otro mediante el mecanizado de tubo de PVC.

El prototipo realizado con piezas estándar de PVC se desestimó debido al aumento de peso ocasionado por el número y volumen de piezas. Otro punto que llevó a esta conclusión fue el tipo de rosca estándar utilizado, que no permitía un desacople rápido para la recogida de la muestra, disminuyendo así la operabilidad del colector.

El segundo prototipo, se realizó en PVC mecanizado, Acero inoxidable AISI 316L y Metacrilato. El mecanizado de la pieza solventó los problemas encontrados en el anterior prototipo y nos permitió personalizar aun más el diseño para cubrir las necesidades planteadas en un primer momento. Este prototipo fue la base con la que trabajar y seguir desarrollando el colector de plancton, hasta llegar al producto que actualmente suministramos (Fig. 1), y del que describimos sus características a continuación.



Figura 1.- Colector de plancton.

Los materiales empleados en la fabricación del colector de plancton, son altamente resistentes a las condiciones ambientales y soportan las inclemencias del medio marino, lo que les proporcionan una elevada longevidad. Este producto está compuesto de dos partes: una fijada a la red y otra desmontable.

La parte fijada a la red, fabricada en PVC, tiene mecanizada una hendidura con bordes rectos en su zona superior para asegurar que la presión que ejerce la abrazadera de acero inoxidable sobre la lona de la red no permita que esta se deslice y se suelte. En su interior lleva mecanizado una rosca hembra cuadrada de gran avance para permitir un desacople rápido. Además el interior del borde superior lleva mecanizado un chafán facilita la entrada de la muestra en el colector.

La parte desmontable, que es la colectora de la muestra, lleva en su zona superior la rosca macho cuadrada, dejando a su inicio 1cm sin roscar para facilitar la alineación con la parte fijada a la red, lo que agiliza el roscado de ambas piezas. En el lateral lleva una ventana con doble marco en acero inoxidable AISI 316 L, uno fijado al cuerpo del colector y otro desmontable para el intercambio de mallas. El marco fijado al cuerpo del colector está pegado mediante un sellante epóxico y tornillos pasantes. Para evitar hacer la rosca de los tornillos en el PVC y que se deteriorara con su uso, se pasaron los tornillos desde el interior del colector hacia afuera, quedando sujeto el segundo marco con tuercas ciegas. Además, para que no sobresalieran y fueran un obstáculo en el interior para la muestra, las cabezas de los tornillos quedan alojadas en un refundido y relleno con sellante epóxico, impidiendo que los organismos queden retenidos en los posibles resquicios. Para asegurar el correcto asentamiento entre la malla y el marco inferior, se ha realizado una junta de goma que se sitúa encima de la malla, para junto con el segundo marco y con ayuda de las tuercas ciegas presionar la malla contra el primer marco y no dejar posibles huecos por donde pueda escapar la muestra. El poder intercambiar la malla fácilmente, nos permite en caso de deterioro o rotura de la misma sustituirla por una nueva en plena campaña. Para su fijación, se decidió utilizar arandelas grove y tuercas ciegas, para asegurar el apriete y evitar posibles enganches con la red que pudieran rasgarla. El fondo del colector fue tapado encastrando a presión una tapa de metacrilato de 1 cm de grosor, para ello se mecanizó una hendidura en el filo inferior del colector y se le aplicó sellante epóxico para garantizar la estanqueidad del mismo. Este fondo de metacrilato, totalmente novedoso en este tipo de equipos, permite que por primera vez podamos visionar la muestra previamente, observar sus características y actuar en consecuencia (densidad de la misma, animales gelatinosos, cuerpos extraños no deseados...). El volumen de muestra que queda alojado en el colector es de aproximadamente 300 ml, lo que permite utilizar botes de 500 ml para su almacenamiento. El vaciado de la muestra se realiza por la parte superior de la parte colectora, tras el previo lavado desde fuera hacia adentro de la malla para separar los posibles organismos que se hayan quedado atrapados en ella, volcando

el colector sobre el lateral opuesto a la ventana de la malla.

Las medidas estándar de este colector son, 110 mm de diámetro por 312 mm de altura lo que permite ser manipulado por una persona sin dificultades, aunque también se han construido en otros diámetros como 90 y 125. Además este mismo colector puede sufrir adaptaciones para redes que necesiten de una estructura que sujeten varios colectores, como es el caso de la red multinet (Fig. 2).



Figura 2.- Colectores para multinet.

Llegar a una versión tan evolucionada del colector con todas las características comentadas, ha sido posible gracias a nuestra experiencia en el uso de este tipo de equipos y a la estrecha colaboración con entidades como la Universidad de Cádiz y el Instituto Español de Oceanografía. Esta manera de innovar y cooperar debe ser el camino para seguir diseñando, desarrollando y fabricando equipos como el colector de plancton.

NUEVAS TECNOLOGÍAS APLICADAS AL DISEÑO Y DESARROLLO DE EQUIPOS OCEANOGRÁFICOS E INSTRUMENTAL DE LABORATORIO

Desde Aquatic BioTechnology queremos seguir evolucionando en el desarrollo de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio, y además de la colaboración con las instituciones comentadas, creemos que es clave la modernización del sector.

Por ello el siguiente paso es combinar mecánica, electrónica y las nuevas tecnologías que ofrecen los móviles, tablets y ordenadores. Con esto pretendemos ser pioneros en la modernización del sector de la oceanografía.

Nuestro primer proyecto, ya en marcha y al que aplicamos esta iniciativa, es el diseño y desarrollo de un ictiómetro óptico-digital que mida automáticamente la longitud de los peces muestreados. Estos datos se recibirían directamente y sin cables a un teléfono, tablet u ordenador a través de aplicaciones diseñadas para tal fin, que además permitirían ver in-situ las estadísticas del muestreo que se está realizando en tiempo real y así tomar las decisiones oportunas. De esta manera se facilitaría extraordinariamente el trabajo y la gestión de los datos obtenidos, evitando el arduo trabajo de informatización de los datos y los errores asociados a este.

Esta misma iniciativa pretendemos aplicarla en la creación de futuros equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio, donde encontramos un amplio número de posibilidades.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo al proyecto por parte de la Universidad de Cádiz, el Instituto Español de Oceanografía y Aeroserv S.L., así mismo agradecemos a Patricia García, a Reyes Sánchez y a Judit Castro por su colaboración en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

Boltovskoy D. 1981. *Atlas del Zooplankton del Atlántico Sudoccidental y Métodos de Trabajo*

con el Zooplancton Marino. Obtención de muestras de plancton. Publicación especial del INIDEP, Mar de Plata, Argentina. 18-19 pp.

Tranter D.J. 1968. Zooplankton Sampling. 3th Ed. En: Fraser, J.H. (ed.): 11-14 pp. *The History of Plankton Sampling*. UNESCO. Paris, Francia.

La importancia del diseño, desarrollo y fabricación de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio adaptados a las necesidades del usuario y en base a conocimientos científicos

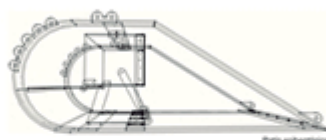


Tarbio A. (1), Barro S. (1), García S. (1) y Aguirre E. (1)

1 Aquatic BioTechnology S.L. C/ Académico Juan Luis Roche 18, 11500 El Puerto de Santa María, España
info@aquaticbiotechnology.com

Colaboración institución/empresa en el diseño y desarrollo de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio

La investigación oceanográfica centra su actividad en un medio tan complejo y diverso como el mar, lo que hace que sufra una serie de limitaciones, ya sea por las condiciones ambientales o por las dificultades que entraña el trabajo en el medio acuático, en cuanto a operabilidad de los aparatos y equipos que deben utilizarse. Por ello es vital mantener una comunicación activa con instituciones relacionadas con la investigación marina para diseñar, desarrollar y fabricar estos equipos en base a la experiencia obtenida en el manejo de los mismos y cubriendo las necesidades detectadas en el campo de la oceanografía.



Algunos ejemplos de nuestras colaboraciones

Colector de Plancton

Marco de acero inoxidable AISI 316L que permite el intercambio de mallas.

Tuercas ciegas para evitar enganches.

Mecanizado en PVC más ergonómico y ligero.

Fondo de metacrilato para visionado de la muestra.

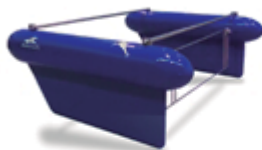
Abrazadera en acero inoxidable para asegurar la correcta sujeción con la red de plancton.

Rosca cuadrada con gran avance que permite un rápido desacople.

Junta de goma para un perfecto ajuste de la malla.

Neuston Frame

Diseñada para el muestreo de plancton situado en la superficie del agua.



Choice Chamber

Cámara de elección para la experimentación con distintos estímulos en invertebrados marinos.



Flow Cell Holder

Soporte de cámaras de flujo de 100µm para analizador de partículas FlowCAM.



Nuevas tecnologías aplicadas al diseño y desarrollo de equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio

Desde Aquatic BioTechnology pretendemos ser pioneros en la modernización del sector de la oceanografía, por ello queremos combinar mecánica, electrónica y las nuevas tecnologías que ofrecen los móviles, tablets y ordenadores.

Nuestro primer proyecto, ya en marcha y al que aplicamos esta iniciativa, es el diseño y desarrollo de un iclómetro óptico-digital que mida automáticamente la longitud de los peces muestreados. Estos datos se recibirán directamente y sin cables a un teléfono, tablet u ordenador a través de aplicaciones diseñadas para tal fin, que además permitirán ver in-situ las estadísticas del muestreo que se está realizando en tiempo real y así tomar las decisiones oportunas. De esta manera se facilitará extraordinariamente el trabajo y la gestión de los datos obtenidos, evitando el arduo trabajo de informatización de los datos y los errores asociados a este.

Esta misma iniciativa es aplicable en la creación de futuros equipos oceanográficos e instrumental de laboratorio, donde encontramos un amplio número de posibilidades.



Escanea y descubre
Aquatic BioTechnology



Facebook.com/aquaticbiotechnology
info@aquaticbiotechnology.com



En colaboración con



www.aquaticbiotechnology.com

iOS 16



Diversidad genética de la claca, *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)

Quinteiro¹ J., Manent² P., Clemente³ P., Pérez-Dieguez¹ L., Rodríguez-Castro¹ J., Goíz⁴ A.R., Alves⁴ A., Araújo⁵ R., Dellinger⁶ T., Carreira⁷ G., Gonçalves⁷ J., Mendoza³ H., Rey-Méndez¹ M., González-Henríquez² N.

¹Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular. Universidade Santiago de Compostela. Edificio CIBUS. Campus VIDA. 15782 Santiago de Compostela. España.

²Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Gobierno de Canarias. Telde. Las Palmas. España.

³Instituto Tecnológico de Canarias. Playa de Pozo Izquierdo, s/n, 35119-Santa Lucía de Tirajana. Las Palmas. España.

⁴Secretaria Regional do Ambiente e Recursos Naturais. Direcção Regional de Pescas. Direcção de Serviços de Investigação das Pescas (SRA/DRP/DSIP). Funchal. Madeira. Portugal.

⁵Museu de História Natural do Funchal. Rua da Mouraria, 31. 9004-546 Funchal. Madeira. Portugal

⁶Universidade de Madeira. Department of Marine Biology and Oceanography. Estação de Biologia Marinha do Funchal. Cais de Carvão Promenade da Orla Marítima. P-9000-107 Funchal. Madeira. Portugal.

⁷Departamento de Oceanografía e Pescas, Universidade dos Açores, Rua Prof. Dr. Frederico Machado, 4, 9901-862 Horta. Faial, Açores. Portugal.

javier.quinteiro@usc.es

RESUMEN

En el marco del proyecto BANGEN se ha seleccionado la claca, *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), como especie objetivo para llevar a cabo el análisis de la diversidad genética

y su estructuración geográfica. Esta información y la de otras especies marinas objetivo permitirán obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica.

El número de ejemplares muestreado por área geográfica se sitúa en torno a los 50 individuos, incluyéndose muestras de los archipiélagos atlánticos de Azores, Madeira y Canarias. Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012) (www.pct-bangen.org). Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia de secuencias de la región control para esta especie ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

La región control de *M. azoricus* fue amplificada mediante los cebadores Mazo-12S-1F/Mazo-Ile-2R, localizados en los flanqueantes 12SrRNA y tRNA-Ile, respectivamente. Se obtuvieron 157 secuencias de individuos de localizaciones en los archipiélagos de Azores, Canarias y Madeira. El alineamiento de estas secuencias de la región control de *Megabalanus azoricus* presentó una longitud de 426 pb.

La red de haplotipos muestra la presencia de varios haplogrupos. El haplogrupo mayoritario se encuentra proporcionalmente representado en las tres áreas, con un elevado número de haplotipos cercanos y radiales que conforman la forma de estrella. Un segundo haplogrupo presenta dos núcleos, uno ceñido a Canarias y Azores y otro representado por Madeira. Los resultados de AMOVA no muestran una significativa estructuración de la varianza genética en las muestras analizadas.

PALABRAS-CLAVE

Filogeografía. *Megabalanus azoricus*, Macaronesia.

INTRODUCCIÓN

En el marco del proyecto BANGEN han sido definidas como especies objetivo: *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765) y *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

Sobre estos taxa se ha llevado a cabo el análisis de la diversidad genética para obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica (Fig. 1). La unidad biogeográfica de la Macaronesia comprende los archipiélagos noratlánticos de Azores, Madeira, Salvajes, y Canarias, además de una amplia franja costera africana situada frente a dichas islas. Los archipiélagos macaronésicos están constituidos por islas volcánicas oceánicas las cuales comienzan a poblarse desde el momento en que emergen, a través de una serie de agentes fundamentales que propician la dispersión genética y el poblamiento insular.

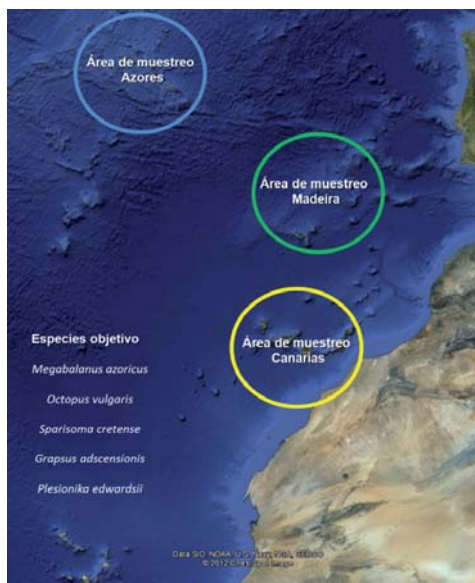


Figura 1.- Áreas de muestreo de la claca, *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916).

La claca (Fig. 2), *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), es un balanomorfo explotado comercialmente teniendo, probablemente, un estado de conservación crítico. El género se distribuye a través de las islas atlánticas. Algunos autores se refieren a *M. azoricus* como la especie que aparece en las islas de Azores, Madeira, Salvajes y Canarias. Probablemente, esta

especie está también presente en Santa Helena, en el Atlántico Sur. El estado sistemático del género *Megabalanus* se ha estudiado, pero no hay información disponible sobre la variabilidad molecular de este género en las islas atlánticas.



Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Cirripedia

Orden: Balanomorpha

Familia: Balanidae

Género: Megabalanus

Especie: *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916)

Figura 2.- Claca, *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916).

MATERIALES Y MÉTODOS

La región control de *M. azoricus* fue amplificada mediante los cebadores Mazo-12S-1F/Mazo-1Ile-2R, localizados en los flancos 12SrRNA y tRNA-Ile, respectivamente. Dicha secuencia ha sido seleccionada debido a su elevada variabilidad, característica requerida para una potencial resolución de la distribución geográfica de la diversidad genética. Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org; Quinteiro *et al.*, 2012).

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y

AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La región control de *M. azoricus* fue amplificada mediante los cebadores Mazo-12S-1F/Mazo-Ile-2R, localizados en los flaqueantes 12SrRNA y tRNA-Ile, respectivamente. Se obtuvieron 157 secuencias de individuos de localizaciones en los archipiélagos de Azores, Canarias y Madeira. El alineamiento de estas secuencias de la región control de *Megabalanus azoricus* presentó una longitud de 426 pb. Los valores de diversidad genética (Tabla I) fueron similares para las tres áreas muestreadas, aunque levemente superior para la muestra de Madeira.

Tabla I.- Valores básicos de diversidad genética para las secuencias de la región control mitocondrial de las muestras de *Megabalanus azoricus*. (h = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica).

Área	N	N hap	h	π
Azores	52	24	0,848	0,00983
Madeira	52	31	0,929	0,0104
Canarias	53	25	0,843	0,00922

La red de haplotipos muestra la presencia de varios haplogrupos. El haplogrupo mayoritario se encuentra proporcionalmente representado en las tres áreas, con un elevado número de haplotipos cercanos y radiales que conforman la forma de estrella. Un segundo haplogrupo presenta dos núcleos, uno ceñido a Canarias y Azores y otro representado por Madeira (Fig. 3).

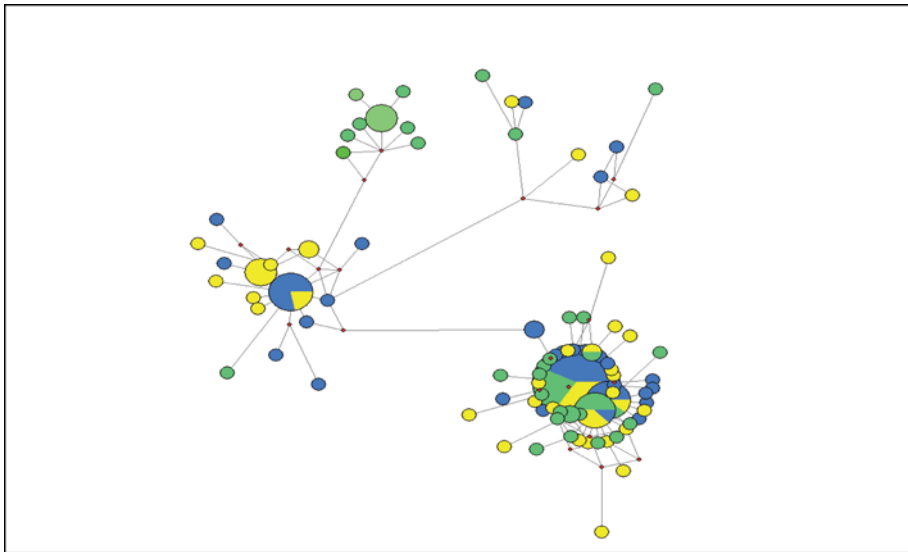


Figura 3.- Red de los haplotipos de la región control mitocondrial de *Megabalanus azoricus*, detectados en el análisis de las poblaciones de Azores (azul), Madeira (verde) y Canarias (amarillo). El área del círculo es proporcional a la frecuencia de los haplotipos.

La existencia del haplogrupo madeirense conlleva la estimación de pequeños valores significativos de diferenciación (F_{st}), en las comparaciones de las áreas de Madeira con el resto. No se obtienen valores significativos en la comparación entre las poblaciones de Azores y Canarias (Tabla II).

Tabla II.- Valores de F_{st} para las comparaciones entre las 3 muestras de *Megabalanus azoricus* correspondientes a los archipiélagos de Azores, Canarias y Madeira (* indica una $P < 0,05$).

Área		
Madeira		
Azores	0,06173*	
Canarias	0,03984*	-0,00206
P<0,05		

Los resultados de AMOVA no muestran una significativa estructuración de la varianza genética en las muestras analizadas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado dentro del proyecto BANGEN, Programa PCT-MAC, con fondos FEDER.

BIBLIOGRAFÍAS

- Bandelt H.J., Forster P. & Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Quinteiro J., Manent P., González N., Rey- Méndez M., Assunção P., Gois A.R., Alves A., Araújo R., Mendoza H. 2012. *Red BANGEMAC: Banco genético marino de Macaronesia (Memoria técnica)*. Edit. González N y Rey-Méndez M.

Diversidad genética de la vieja, *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)

Clemente¹ P., Quinteiro² J., Manent³ P., Rodríguez-Castro² J., Pérez-Dieguez² L., Goíz⁴ A.R., Alves⁴ A., Araújo⁵ R., Dellinger⁶ T., Carreira⁷ G., Gonçalves⁷ J., Mendoza¹ H., Rey-Méndez² M., González-Henríquez³ N.

¹Instituto Tecnológico de Canarias. Playa de Pozo Izquierdo, s/n, 35119-Santa Lucía de Tirajana. Las Palmas. España.

²Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular. Universidade Santiago de Compostela. Edificio CIBUS. Campus VIDA. 15782 Santiago de Compostela. España.

³Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Gobierno de Canarias. Telde. Las Palmas. España.

⁴Secretaria Regional do Ambiente e Recursos Naturais. Direcção Regional de Pescas. Direcção de Serviços de Investigaçao das Pescas (SRA/DRP/DSIP). Funchal. Madeira. Portugal.

⁵Museu de História Natural do Funchal. Rua da Mouraria, 31. 9004-546 Funchal. Madeira. Portugal

⁶Universidade de Madeira. Department of Marine Biology and Oceanography. Estação de Biologia Marinha do Funchal. Cais de Carvão Promenade da Orla Marítima. P-9000-107 Funchal. Madeira. Portugal.

⁷Departamento de Oceanografía e Pescas, Universidade dos Açores, Rua Prof. Dr. Frederico Machado, 4, 9901-862 Horta. Faial, Açores. Portugal.

p.clemente@itccanarias.org

RESUMEN

En el marco del proyecto BANGEN se ha seleccionado a la vieja *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), como especie objetivo para llevar a cabo el análisis de la diversidad

genética y su estructuración geográfica. Esta información y la de otras especies marinas objetivo permitirán obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica.

El número de ejemplares muestreado por área geográfica se sitúa en torno a los 30-50 individuos, incluyéndose muestras de los archipiélagos atlánticos de Azores, Madeira y Canarias. Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org). Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para estas especies ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

En este trabajo, la región control parcial de *S. cretense*, correspondiente a 124 individuos, ha sido amplificada en dos fragmentos. El primero contiene el dominio izquierdo, con secuencias repetitivas que dificultan la secuenciación, mediante los cebadores Scrc F1 Pro/Scrc 3R CSB que se encuentran localizados en el tRNA-Pro y en el bloque de secuencia conservado (CSB), localizado en la zona central de la región control, respectivamente. El segundo fragmento, conteniendo el dominio derecho de la región control, ha sido amplificado con los cebadores Scrc 4F CSB y Scrc R2 Phe, localizados en la CSB y tRNA-Phe, respectivamente. En el análisis de las secuencias ha sido eliminada la zona con repeticiones en tándem, con un alineamiento final de 1069 pb de longitud. La red de haplotipos elaborada muestra 2 haplogrupos separados por un limitado número de mutaciones, acompañados de haplotipos radiales en baja frecuencia. La presencia de los haplotipos es similar en las 3 áreas de muestreo.

En congruencia con esa homogénea distribución geográfica de los haplotipos, los valores estimados de diferenciación (F_{st}) son próximos a 0, sin ninguna significancia

PALABRAS-CLAVE

Filogeografía. *Sparisoma cretense*, Macaronesia.

INTRODUCCIÓN

En el marco del proyecto BANGEN han sido definidas como especies objetivo: *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765) y *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

Sobre estos taxa se han llevado a cabo el análisis de la diversidad genética para obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica (Fig. 1). La unidad biogeográfica de la Macaronesia comprende los archipiélagos noratlánticos de Azores, Madeira, Salvajes, y Canarias, además de una amplia franja costera africana situada frente a dichas islas. Los archipiélagos macaronésicos están constituidos por islas volcánicas oceánicas las cuales comienzan a poblarse desde el momento en que emergen, a través de una serie de agentes fundamentales que propician la dispersión genética y el poblamiento insular.



Figura 1.- Áreas de muestreo de la vieja, *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758).

La vieja (Fig. 2), *Sparisoma cretense*, es un pez de la familia Scaridae, constituyendo un recurso pesquero muy apreciado. Aunque en un trabajo previo se ha tratado la estructura genética de *S. cretense* en el Atlántico Norte, éste no se ha centrado en la estructura de los archipiélagos macaronésicos, con un limitado tamaño muestral y considerando casi

exclusivamente secuencias conservadas con repeticiones en tándem (Bernardi *et al.*, 2000).



Reino - Animalia

Filo - Chordata

Clase - Actinopterygii

Orden - Perciformes

Familia - Scaridae

Genero - Sparisoma

Especie - *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758)

Figura 2.- La vieja, *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para estas especies ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos. En este trabajo, la región control parcial de *S. cretense*, correspondiente a 124 individuos, ha sido amplificada en dos fragmentos. En primero contiene el dominio izquierdo, con secuencias repetitivas que dificultan la secuenciación, mediante los cebadores Scrc F1 Pro/ Scrc 3R CSB que se encuentran localizados en el tRNA-Pro y en el bloque de secuencia conservado (CSB), localizado en la zona central de la región control, respectivamente. El segundo fragmento, conteniendo el dominio derecho de la región control, ha sido amplificado con los cebadores Scrc 4F CSB y Scrc R2 Phe, localizados en la CSB y tRNA-Phe, respectivamente.

Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org;

Quinteiro *et al.* 2012).

Para los organismos citados ha sido seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial. Dicha secuencia ha sido seleccionada debido a su elevada variabilidad, característica requerida para una potencial resolución de la distribución geográfica de la diversidad genética.

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (Fst y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis de las secuencias ha sido eliminada la zona con repeticiones en tándem, con un alineamiento final de 1069 pb de longitud. Los valores de diversidad haplotípica (h) son elevados, con unos modestos valores de diversidad nucleotídica (π). Ambos valores son similares para las 3 áreas evaluadas (Azores, Madeira y Canarias) (Tabla I).

Tabla I.- Valores básicos de diversidad genética para las secuencias de la región control mitocondrial de las muestras de *Sparisoma cretense*. (h= diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica).

Área	N	N hap	h	π
Azores	49	43	0,99150	0,00428
Madeira	39	31	0,98381	0,00377
Canarias	36	28	0,97619	0,00347

La red de haplotipos (Fig. 3) elaborada muestra 2 haplogrupos separados por un limitado número de mutaciones, acompañados de haplotipos radiales en baja frecuencia. La presencia

de los haplotipos es similar en las 3 áreas de muestreo.

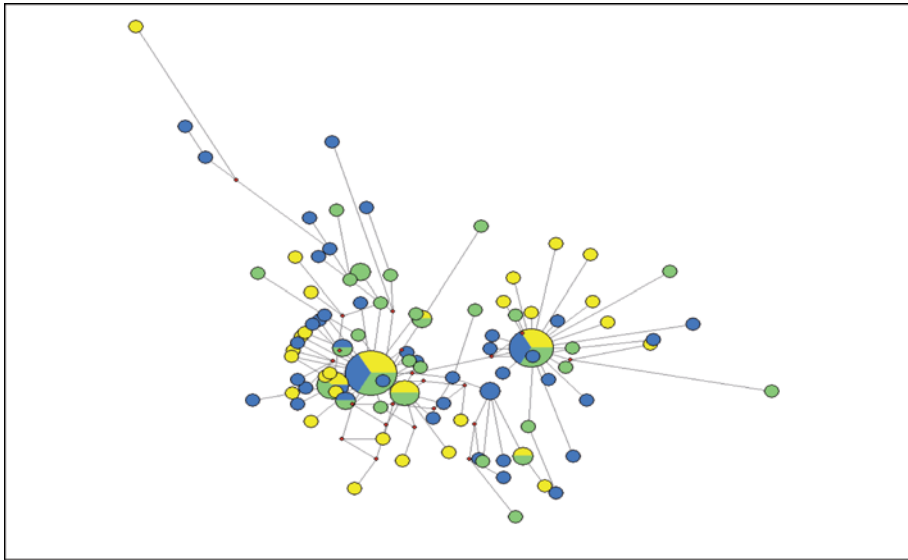


Figura 3.- Red de los haplotipos de la región control mitocondrial de *Sparisoma cretense*, detectados en el análisis de las poblaciones de Azores (azul), Madeira (verde) y Canarias (amarillo). El área del círculo es proporcional a la frecuencia de los haplotipos.

En congruencia con esa homogénea distribución geográfica de los haplotipos los valores estimados de diferenciación (F_{st}) son próximos a 0, sin ninguna significancia (Tabla II).

Tabla II.- Valores básicos de diversidad genética para las secuencias de la región control mitocondrial de las muestras de *Sparisoma cretense*. (h = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica).

Área	h	π
Azores		
Canarias	-0,00251	
Madeira	-0,00784	-0,00222
$P < 0,05$		

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado dentro del proyecto BANGEN, Programa PCT-MAC, con fondos FEDER.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandelt H.J., Forster P. & Rohlf A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Bernardi G., Robertson D.R., Clifton K.E. & Azurro E. 2000. Molecular Systematics, zoogeography, and evolutionary ecology of the Atlantic Parrotfish genus *Sparisoma*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15: 292-300.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Quinteiro J., Manent P., González N., Rey-Méndez M., Assunção P., Gois A.R., Alves A., Araújo R., Mendoza H. 2012. *Red BANGEMAC: Banco genético marino de Macaronesia (Memoria técnica)*. Edit. González N y Rey-Méndez M.

Diversidad genética del camarón soldado, *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)

Manent¹ P., Quinteiro² J., Clemente³ P., Rodríguez-Castro² J., Pérez-Dieguez² L., Goíz⁴ A.R., Alves⁴ A., Araújo⁵ R., Dellinger⁶ T., Carreira⁷ G., Gonçalves⁷ J., Mendoza³ H., Rey-Méndez² M., González-Henríquez¹ N.

¹Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Gobierno de Canarias. Telde. Las Palmas. España.

²Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular. Universidade Santiago de Compostela. Edificio CIBUS. Campus VIDA. 15782 Santiago de Compostela. España.

³Instituto Tecnológico de Canarias. Playa de Pozo Izquierdo, s/n, 35119-Santa Lucía de Tirajana. Las Palmas. España.

⁴Secretaria Regional do Ambiente e Recursos Naturais. Direcção Regional de Pescas. Direcção de Serviços de Investigação das Pescas (SRA/DRP/DSIP). Funchal. Madeira. Portugal.

⁵Museu de História Natural do Funchal. Rua da Mouraria, 31. 9004-546 Funchal. Madeira. Portugal

⁶Universidade de Madeira. Department of Marine Biology and Oceanography. Estação de Biologia Marinha do Funchal. Cais de Carvão Promenade da Orla Marítima. P-9000-107 Funchal. Madeira. Portugal.

⁷Departamento de Oceanografia e Pescas, Universidade dos Açores, Rua Prof. Dr. Frederico Machado, 4, 9901-862 Horta. Faial, Açores. Portugal.

pmansin@gobiernodecanarias.org

RESUMEN

En el marco del proyecto BANGEN se ha seleccionado el camarón soldado, *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851), como especie objetivo para llevar a cabo el análisis de la diversidad

genética y su estructuración geográfica. Esta información y la de otras especies marinas objetivo permitirá obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica.

El número de ejemplares muestreado por área geográfica se sitúa en torno a los 30-50 individuos, incluyéndose muestras de los archipiélagos atlánticos de Azores, Madeira y Canarias. Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org). Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para esta especie ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

La región control de *Plesionika edwardsii*, junto con sus regiones flanqueantes han sido caracterizadas, permitiendo el diseño de los cebadores Ples-12S-1F y Ples-Ile-3R, localizados en el 12SrRNA y tRNA-Ile, respectivamente. El alineamiento obtenido incluye 630 pares de bases y 106 individuos analizados. La red de haplotipos obtenida para *Plesionika edwardsii* muestra una distribución homogénea, sin agrupamientos de haplotipos divergentes. El máximo valor de h y elevado de π , es congruente con un elevado tamaño poblacional, así, estos valores elevados de h y π , indicarían una población estable con un amplio tamaño efectivo, vital para una especie que constituye un nuevo recurso marino a explotar. No se han observado valores significativos de diferenciación genética entre los archipiélagos muestreados.

PALABRAS CLAVE

Filogeografía. *Plesionika edwardsii*, Macaronesia.

INTRODUCCIÓN

En el marco del proyecto BANGEN han sido definidas como especies objetivo: *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765) y *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

Sobre estos taxa se han llevado a cabo el análisis de la diversidad genética para obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica (Fig.1). La unidad biogeográfica de la Macaronesia comprende los archipiélagos noratlánticos de Azores, Madeira, Salvajes, y Canarias, además de una amplia franja costera africana situada frente a dichas islas.

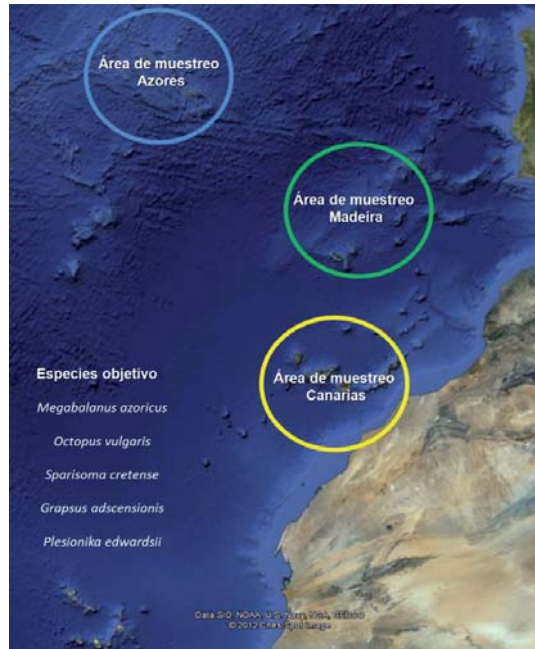


Figura 1.- Áreas de muestreo de camarón soldado, *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

Los archipiélagos macaronésicos están constituidos por islas volcánicas oceánicas las cuales comienzan a poblarse desde el momento en que emergen, a través de una serie de agentes fundamentales que propician la dispersión genética y el poblamiento insular. El camarón soldado, *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851) es un decápodo de la familia Pandalidae (Fig. 2). Presenta una escasa información genética en las bases de datos públicas

(Genbank y BOLD) y una correspondiente ausencia de trabajos previos sobre su estructura genética poblacional.



Filo -Arthropoda
Clase - Crustacea
Subclase - Malacostraca
Serie - Eumalacostraca
Superorden - Eucarida
Orden - Decapoda
Supersección - Natantia
Sección - Caridea
Familia - Pandalidae Haworth, 1825
Género - Plesionika Bate, 1888
Especie - *Plesionika edwardsii*
(Brandt, 1851)

Figura 2.- Camarón soldado, *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para esta especie ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos. Así, la región control de *Plesionika edwardsii*, junto con sus regiones flanqueantes han sido caracterizadas, permitiendo el diseño de los cebadores Ples-12S-1F y Ples-Ile-3R, localizados en el 12SrRNA y tRNA-Ile, respectivamente. Se analizaron 3 muestras localizadas en los archipiélagos de Azores, Madeira y Canarias.

Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org; Quinteiro *et al.*, 2012).

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (Fst y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró

una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El alineamiento obtenido incluye 630 pares de bases y 106 individuos analizados. Los valores de diversidad haplotípicos son extremos con unos valores máximos de 1, no se han detectado dos haplotipos idénticos. La diversidad nucleotídica también es elevada, como es esperable de la divergencia observada entre dichos haplotipos (Tabla I). El máximo valor de h y elevado de π , es congruente con un elevado tamaño poblacional, así, estos valores elevados de h y π , indicarían una población estable con un amplio tamaño efectivo, vital para una especie que constituye un nuevo recurso marino a explotar.

Tabla I.- Valores básicos de diversidad genética para las secuencias de la región control mitocondrial de las muestras de *Plesionika edwardsii*.

Área	N	N hap	h	π
Azores	41	41	1	0,037533
Madeira	37	37	1	0,037127
Canarias	28	28	1	0,037648

En congruencia con la distribución observada en la red de haplotipos, se observan unos valores de F_{st} próximos a 0 y no significativos en la comparación entre poblaciones, indicando una ausencia de diferenciación genética entre los archipiélagos muestreados (Tabla II).

Tabla II.- Valores de F_{st} para las comparaciones entre las 3 muestras de *Plesionika edwardsii* correspondientes a los archipiélagos de Azores, Canarias y Madeira (* indica una $P < 0,05$).

Área		
Canarias		
Azores	-0,00052	
Madeira	0,00432	-0,00518
$P < 0,05$		

La red de haplotipos obtenida para *Plesionika edwardsii* muestra una distribución homogénea, sin agrupamientos de haplotipos divergentes. La elevada presencia de nodos intermedios corresponde a haplotipos no muestreados o no existentes, situados en una posición intermedia conectando dos o más haplotipos sí detectados (Fig. 3).

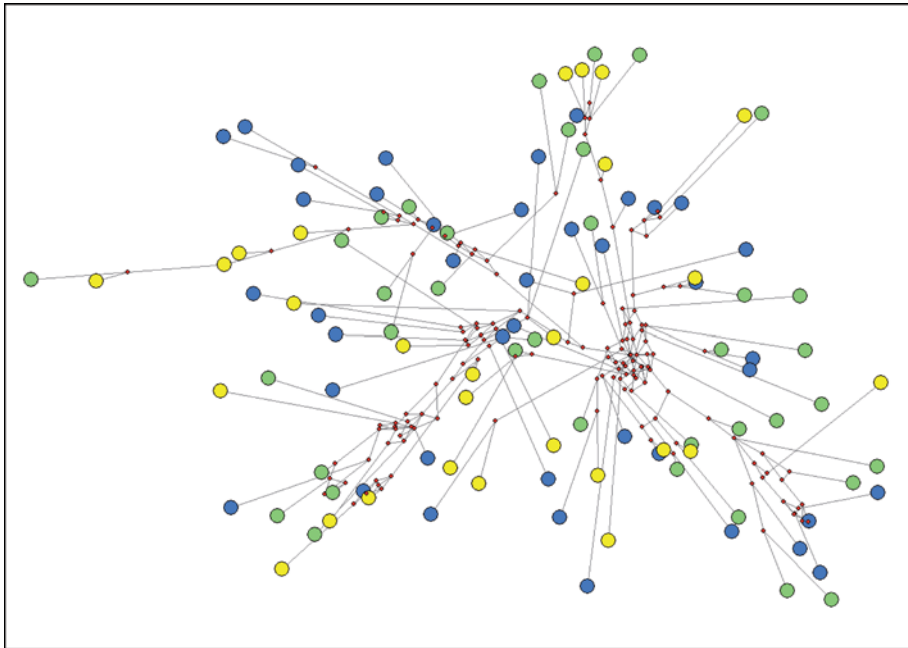


Figura 3.- Red de los haplotipos de la región control mitocondrial de *Plesionika edwardsii*, detectados en el análisis de las poblaciones de Azores (azul), Madeira (verde) y Canarias (amarillo). El área del círculo es proporcional a la frecuencia de los haplotipos. Los nodos (rojo) indican la presencia de haplotipos intermedios no existentes o no muestreados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado dentro del proyecto BANGEN, Programa PCT-MAC, con fondos FEDER.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandelt H.J., Forster P. & Rohlf A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Quinteiro J., Manent P., González N., Rey- Méndez M., Assunção P., Gois A.R., Alves A., Araújo R., Mendoza H. 2012. *Red BANGEMAC: Banco genético marino de Macaronesia (Memoria técnica)*. Edit. González N. y Rey-Méndez M.

Diversidad genética del cangrejo moro, *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)

Manent¹ P., Quinteiro² J., Clemente³ P., Rodríguez-Castro² J., Pérez-Dieguez² L., Goíz⁴ A.R., Alves⁴ A., Araújo⁵ R., Dellinger⁶ T., Carreira⁷ G., Gonçalves⁷ J., Mendoza³ H., Rey-Méndez² M., González-Henríquez¹ N.

¹Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Gobierno de Canarias. Telde. Las Palmas. España.

²Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular. Universidade Santiago de Compostela. Edificio CIBUS. Campus VIDA. 15782 Santiago de Compostela. España.

³Instituto Tecnológico de Canarias. Playa de Pozo Izquierdo, s/n, 35119-Santa Lucía de Tirajana. Las Palmas. España.

⁴Secretaria Regional do Ambiente e Recursos Naturais. Direcção Regional de Pescas. Direcção de Serviços de Investigação das Pescas (SRA/DRP/DSIP). Funchal. Madeira. Portugal.

⁵Museu de História Natural do Funchal. Rua da Mouraria, 31. 9004-546 Funchal. Madeira. Portugal.

⁶Universidade de Madeira. Department of Marine Biology and Oceanography. Estação de Biologia Marinha do Funchal. Cais de Carvão Promenade da Orla Marítima. P-9000-107 Funchal. Madeira. Portugal.

⁷Departamento de Oceanografia e Pescas, Universidade dos Açores, Rua Prof. Dr. Frederico Machado, 4, 9901-862 Horta. Faial, Açores. Portugal.

pmansin@gobiernodecanarias.org

PALABRAS-CLAVE

Filogeografía. *Grapsus adscensionis*, Macaronesia.

RESUMEN

En el marco del proyecto BANGEN se ha seleccionado el cangrejo moro, *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765), como especie objetivo para llevar a cabo el análisis de la diversidad genética y su estructuración geográfica. Esta información y la de otras especies marinas objetivo permitirán obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica.

El número de ejemplares muestreado por área geográfica se sitúa en torno a los 30-50 individuos, incluyéndose muestras de los archipiélagos atlánticos de Azores, Madeira y Canarias. Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org). Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para esta especie ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos.

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

La región control de *Grapsus adscensionis* y sus regiones flanqueantes han sido caracterizadas, permitiendo el diseño de los cebadores Gra-12S-1F y Gra-Gln-2R, localizados en el 12SrRNA y tRNA-Gln, respectivamente. El alineamiento obtenido incluye 653 pares de bases y 127 individuos analizados. La red de haplotipos muestra la presencia de dos haplogrupos íntimamente relacionados, acompañados de haplotipos radiales, en menor frecuencia, y representados en las tres áreas de muestreo. Sin embargo, los valores de F_{st} , obtenidos de las comparaciones intermuestrales indican una baja, pero significativa diferenciación, entre las muestras de Azores y Canarias. Esta especie presenta un relativo bajo valor de π , congruente con un rápido crecimiento poblacional a partir de poblaciones ancestrales con un escaso tamaño poblacional.

INTRODUCCIÓN

En el marco del proyecto BANGEN han sido definidas como especies objetivo: *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765) y *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

Sobre estos taxa se han llevado a cabo el análisis de la diversidad genética para obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica (Fig. 1). La unidad biogeográfica de la Macaronesia comprende los archipiélagos noratlánticos de Azores, Madeira, Salvajes, y Canarias, además de una amplia franja costera africana situada frente a dichas islas. Los archipiélagos macaronésicos están constituidos por islas volcánicas oceánicas las cuales comienzan a poblarse desde el momento en que emergen, a través de una serie de agentes fundamentales que propician la dispersión genética y el poblamiento insular.



Figura 1.- Áreas de muestreo del cangrejo moro, *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765).

El cangrejo moro (Fig. 2), *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765), es un grapsóide que se distribuye a través del Atlántico Este. Clasificado como *G. grapsus* hasta 1990, se ha separado de la especie congénérica presente en el Pacífico, incluyendo islas como las Galápagos, de

las cuales es una especie representativa. Además de caracteres morfológicos diferenciados en los adultos, se han descrito diferencias morfológicas entre estas dos especies en el estadio larvario. Los estudios moleculares disponibles lo sitúan dentro de la Familia *Grapsidae*, en un clado con *Pachygrapsus* y *Metopograpsus*. Sin embargo, no existen datos sobre la diversidad de esta especie con escasa información genética. Se analizaron 3 muestras localizadas en los archipiélagos de Azores, Madeira y Canarias.



Reino - Animalia

Filo - Arthropoda

Clase - Malacostraca

Orden - Decapoda

Familia - Grapsidae

Genero - Grapsus

Especie - *Grapsus adscensionis* Osbeck, 1765

Figura 2.- Cangrejo moro, *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org; Quinteiro *et al.*, 2012).

Se ha seleccionado como marcador molecular la secuencia de la región control mitocondrial. Dicha secuencia ha sido elegida debido a su elevada variabilidad, característica requerida para una potencial resolución de la distribución geográfica de la diversidad genética en las áreas muestreadas (Fig.1).

Sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para estas especies ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes.

Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos de *Grapsus adscensionis*. Así, La región control de *Grapsus adscensionis* y sus regiones flanqueantes han sido caracterizadas, permitiendo el diseño de los cebadores Gra-12S-1F y Gra-Gln-2R, localizados en el 12SrRNA y tRNA-Gln, respectivamente.

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (Fst y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El alineamiento obtenido incluye 653 pares de bases y 127 individuos analizados. Los valores de diversidad haplotípicos son elevados con un moderado valor de diversidad nucleotídica, especialmente en la muestra de Azores (Tabla I).

Tabla I.- Valores básicos de diversidad genética para las secuencias de la región control mitocondrial de las muestras de *Grapsus adscensionis*.

Área	N	N hap	h	π
Azores	53	31	0,9427	0,00297
Madeira	31	19	0,9462	0,00408
Canarias	43	29	0,9712	0,005

La red de haplotipos muestra la presencia de dos haplogrupos íntimamente relacionados, acompañados de haplotipos radiales, en menor frecuencia, y representados en las tres áreas de muestreo (Fig. 3).

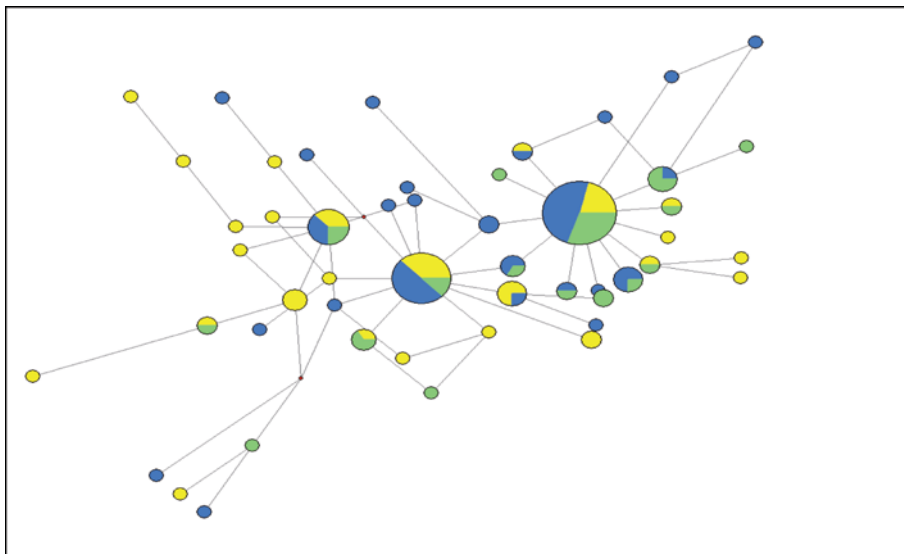


Figura 3.- Red de los haplotipos de la región control mitocondrial de *Grapsus adscensionis*, detectados en el análisis de las poblaciones de Azores (azul), Madeira (verde) y Canarias (amarillo). El área del círculo es proporcional a la frecuencia de los haplotipos.

Sin embargo, los valores de F_{st} , obtenidos de las comparaciones intermuestrales indican una baja, pero significativa diferenciación, entre las muestras de Azores y Canarias (Tabla II).

Tabla II.- Valores de F_{st} para las comparaciones entre las 3 muestras de *Grapsus adscensionis* correspondientes a los archipiélagos de Azores, Canarias y Madeira (*indica una $P < 0,05$).

Área		
Azores		
Canarias	0,05293 *	
Madeira	-0,00404	0,07325*
P<0,05		

Esta especie presenta un relativo bajo valor de π , congruente con un rápido crecimiento poblacional a partir de poblaciones ancestrales con un escaso tamaño poblacional.

Los valores estimados de diversidad para la especie a lo largo de los archipiélagos de Azores, Madeira y Canarias reflejan las peculiaridades de su biología y demografía, con una significativa diferenciación entre archipiélagos en el caso del cangrejo moro (*G. adscensionis*).

Se ha detectado la presencia de pares de haplogrupos mayoritarios y divergentes que, probablemente, tenga su origen en el aislamiento histórico de linajes ancestrales (Fig. 3).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado dentro del proyecto BANGEN, Programa PCT-MAC, con fondos FEDER.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandelt H.J., Forster P. & Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Quinteiro J., Manent P., González N., Rey-Méndez M., Assunção P., Gois A.R., Alves A., Araújo R., Mendoza H. 2012. *Red BANGEMAC: Banco genético marino de Macaronesia (Memoria técnica)*. Edit. González N. y Rey-Méndez M.

Diversidad genética del pulpo, *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797), en la región macaronésica: resultados preliminares Proyecto BANGEN (Programa PCT-MAC)

Quinteiro¹ J., Manent² P., Clemente³ P., Rodríguez-Castro¹ J., Pérez-Dieguez¹ L., Goíz⁴ A.R., Alves⁴ A., Araújo⁵ R., Dellinger⁶ T., Carreira⁷ G., Gonçalves⁷ J., Mendoza³ H., Rey-Méndez¹ M., González-Henríquez² N.

¹Departamento de Bioquímica e Bioloxía Molecular. Universidade Santiago de Compostela. Edificio CIBUS. Campus VIDA. 15782 Santiago de Compostela. España.

²Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Gobierno de Canarias. Telde. Las Palmas. España.

³Instituto Tecnológico de Canarias. Playa de Pozo Izquierdo, s/n, 35119-Santa Lucía de Tirajana. Las Palmas. España.

⁴Secretaria Regional do Ambiente e Recursos Naturais. Direcção Regional de Pescas. Direcção de Serviços de Investigação das Pescas (SRA/DRP/DSIP). Funchal. Madeira. Portugal.

⁵Museu de História Natural do Funchal. Rua da Mouraria, 31. 9004-546 Funchal. Madeira. Portugal.

⁶Universidade de Madeira. Department of Marine Biology and Oceanography. Estação de Biologia Marinha do Funchal. Cais de Carvão Promenade da Orla Marítima. P-9000-107 Funchal. Madeira. Portugal.

⁷Departamento de Oceanografia e Pescas, Universidade dos Açores, Rua Prof. Dr. Frederico Machado, 4, 9901-862 Horta. Faial, Açores. Portugal.

javier.quinteiro@usc.es

RESUMEN

En el marco del proyecto BANGEN se ha seleccionado el pulpo común, *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), como especie objetivo para llevar a cabo el análisis de la diversidad genética y su estructuración geográfica. Esta información y la de otras especies marinas objetivo

permitirán obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica.

El número de ejemplares muestreado por área geográfica se sitúa en torno a los 30 y 50 individuos, incluyéndose muestras de los archipiélagos atlánticos de Azores, Madeira y Canarias, además de una muestra peninsular. Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org). Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para estas especies ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

La secuencia de la región control de *O. vulgaris* ha sido obtenida mediante la amplificación con los cebadores OVULCR3F y OVULCR4R, localizados en los flanqueantes y RNA-Glu y COX3, respectivamente. El alineamiento de tales secuencias presentó una longitud de 637 pb, incluyéndose un total de 186 individuos. La red de haplotipos elaborada muestra una importante divergencia entre 2 haplogrupos mayoritarios, que probablemente, tenga su origen en el aislamiento histórico de linajes ancestrales. Destaca la ausencia de uno de los haplogrupos en la muestra de Galicia (noroeste de la península ibérica).

Los bajos valores de diversidad haplotípica y nucleotídica en *O. vulgaris*, a lo largo de los archipiélagos de Azores, Madeira y Canarias, reflejan las peculiaridades de su biología y demografía, y probablemente del importante esfuerzo pesquero al que se encuentra sometido, con una significativa diferenciación genética entre archipiélagos.

PALABRAS-CLAVE

Filogeografía, *Octopus vulgaris*, Macaronesia.

INTRODUCCIÓN

En el marco del proyecto BANGEN han sido definidas como especies objetivo: *Megabalanus azoricus* (Pilsbry, 1916), *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758), *Grapsus adscensionis* (Osbeck, 1765) y *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851).

Sobre estos taxa se han llevado a cabo el análisis de la diversidad genética para obtener una imagen de la filogeografía marina macaronésica (Fig. 1). La unidad biogeográfica de la Macaronesia comprende los archipiélagos noratlánticos de Azores, Madeira, Salvajes, y Canarias, además de una amplia franja costera africana situada frente a dichas islas. Los archipiélagos macaronésicos están constituidos por islas volcánicas oceánicas las cuales comienzan a poblarse desde el momento en que emergen, a través de una serie de agentes fundamentales que propician la dispersión genética y el poblamiento insular.

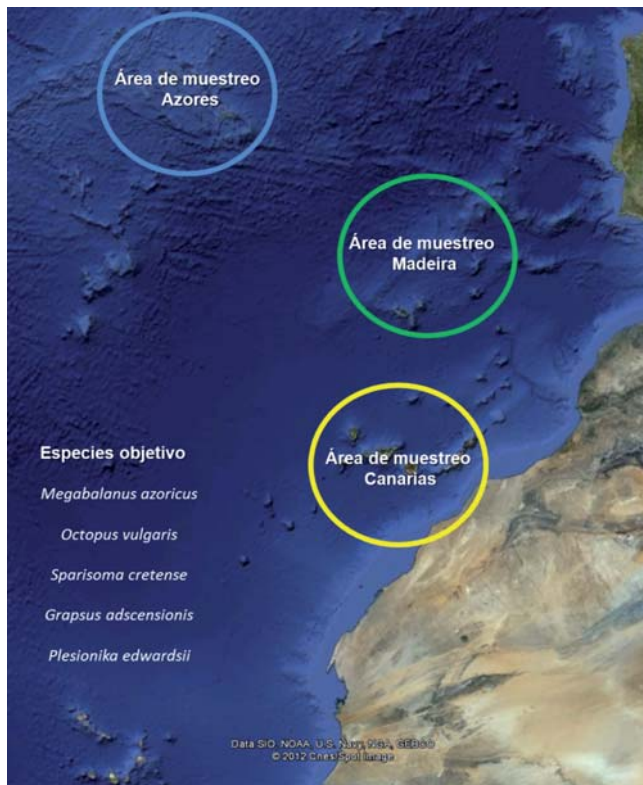


Figura 1.- Áreas de muestreo del pulpo común, *Octopus vulgaris* (Lamarck, 1798).

El pulpo común (Fig. 2), *Octopus vulgaris* (Lamarck, 1798), se define generalmente como subtropical cosmopolita, sometido a una fuerte explotación. Sin embargo, subsisten dudas importantes acerca de su estado taxonómico a través del globo. Además de la clarificación taxonómica, la comprensión de la estructura poblacional es crucial para la gestión compartida de este recurso y en una situación de sobreexplotación.



Reino - Animalia

Filo - Mollusca

Clase - Cephalopoda

Orden - Octopoda

Familia - Octopodidae

Género - Octopus

Especie – *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797

Figura 2.- El pulpo común, *Octopus vulgaris* (Lamarck, 1798).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los protocolos utilizados de muestreo, clasificación, almacenamiento, aislamiento de ADN, secuenciación y análisis de datos, son los recogidos en la “Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas” (BANGEN, 2012; www.pct-bangen.org; Quinteiro *et al.* 2012).

Se ha seleccionado como marcador molecular las secuencias de la región control mitocondrial, sin embargo, la ausencia generalizada de secuencias de la región control para estas especies ha implicado una previa caracterización de dichas secuencias y zonas flanqueantes. Para ello ha sido necesaria la amplificación (PCR) con cebadores “universales” de diseño propio, la clonación de productos de PCR, su secuenciación y el diseño de cebadores específicos. Así, la secuencia de la región control de *O. vulgaris* ha sido obtenida mediante la amplificación con los cebadores OVULCR3F y OVULCR4R, localizados en los flanqueantes y RNA-Glu y COX3, respectivamente. Dicha secuencia ha sido seleccionada debido a su

elevada variabilidad, característica requerida para una potencial resolución de la distribución geográfica de la diversidad genética a lo largo de las áreas de muestreo (Fig.1).

Los datos básicos de diversidad genética y de estimación de estructura genética (F_{st} y AMOVA), fueron obtenidos con Arlequin (Excoffier, Laval & Schneider, 2005). Se elaboró una red de haplotipos presentados por cada individuo mediante el software Network (Bandelt, Forster & Rohl, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El alineamiento de tales secuencias presentó una longitud de 637 pb, incluyéndose un total de 186 individuos. Los valores de diversidad haplotípica son relativamente bajos en todas las áreas, en especial en la muestra de Azores (Tabla I).

Tabla I.- Valores básicos de diversidad genética para las secuencias de la región control mitocondrial de las muestras de *Octopus vulgaris*. (h = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica).

Área	N	N hap	h	π
Azores	52	12	0,650	0,00951
Madeira	48	15	0,810	0,01831
Canarias	38	11	0,764	0,01757
Galicia	48	17	0,840	0,00181

La red de haplotipos elaborada muestra una importante divergencia entre 2 haplogrupos mayoritarios, que probablemente, tenga su origen en el aislamiento histórico de linajes ancestrales. Destaca la ausencia de uno de los haplogrupos en la muestra de Galicia (noroeste de la península ibérica) (Fig. 3).

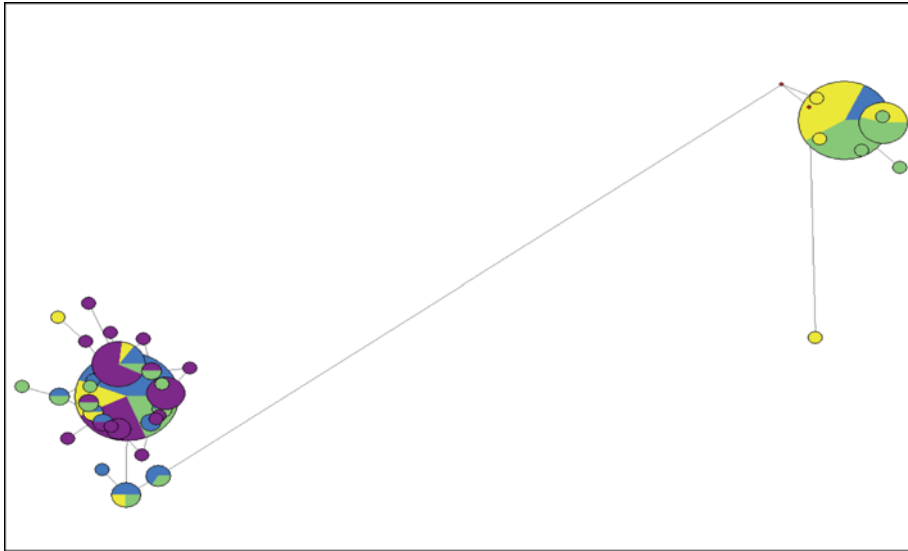


Figura 3.- Red de los haplotipos de la región control mitocondrial de *Octopus vulgaris*, detectados en el análisis de las poblaciones de Azores (azul), Madeira (verde), Galicia (morado) y Canarias (amarillo). El área del círculo es proporcional a la frecuencia de los haplotipos.

Los valores de diferenciación F_{st} han sido todos significativos con la excepción del estimado para la comparación de las poblaciones de Canarias y Madeira (Tabla II). El mayor valor obtenido es para las áreas situados en el extremo del rango de muestreo: Galicia y Canarias.

Tabla II.- Valores de F_{st} para las comparaciones entre las 3 muestras de *Octopus vulgaris* correspondientes a los archipiélagos de Azores, Canarias, Galicia y Madeira (* indica una $P < 0,05$).

Área			
Galicia			
Canarias	0,62427*		
Azores	0,10730*	0,40712*	
Madeira	0,47008*	0,00968	0,25381*
P<0,05			

En congruencia se obtienen valores significativos en el análisis de AMOVA entre las

distintas poblaciones, donde se obtiene la mayoría de la varianza. Sin embargo, la varianza entre dos grupos evaluados, incluyendo la península frente a los archipiélagos, no es significativa.

Los bajos valores de diversidad haplotípica y nucleotídica en *O. vulgaris*, a lo largo de los archipiélagos de Azores, Madeira y Canarias reflejan las peculiaridades de su biología y demografía, y probablemente del importante esfuerzo pesquero al que se encuentra sometido, con una significativa diferenciación genética entre archipiélagos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado dentro del proyecto BANGEN, Programa PCT-MAC, con fondos FEDER.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandelt H.J., Forster P. & Rohlf A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Quinteiro J., Manent P., González N., Rey-Méndez M., Assunção P., Gois A.R., Alves A., Araújo R., Mendoza H. 2012. *Red BANGEMAC: Banco genético marino de Macaronesia (Memoria técnica)*. Edit. González N. y Rey-Méndez M.

Edad y crecimiento de *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz

Delgado¹ M., Silva¹ L., Martínez¹ E., Moura² P., Gaspar² M.

¹Instituto Español de Oceanografía. C.O. Cádiz. Puerto Pesquero, Muelle de Levante s/n, 11.006, Cádiz.

²Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P (IPMA). Avenida 5 de Outubro s/n, 8700-305 Olhão (Portugal)
marina.delgado@cd.ieo.es

RESUMEN

Se ha estimado la edad y crecimiento de *C. gallina* en el del Golfo de Cádiz (margen sudatlántico español) a lo largo de un año de estudio y mediante el uso de tres metodologías: (1) análisis de la distribución de frecuencias de tallas, (2) de anillos superficiales en las valvas y (3) de las pautas de microcrecimiento mediante réplicas de acetato. Las curvas de crecimiento de Von Bertalanffy estimadas a partir de las claves talla-edad obtenidas mediante cada una de las técnicas empleadas fueron: (1) $L_t = 44,30 [1 - e^{-0,38(t + 0,04)}]$; (2) $L_t = 36,11 [1 - e^{-0,67(t - 0,26)}]$ y (3) $L_t = 36,11 [1 - e^{-0,79(t + 0,45)}]$. Asimismo se obtuvieron datos de crecimiento relativo (longitud/altura; longitud/anchura y longitud/peso). La población de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz consta de tres clases de edad bien definidas con tallas en torno a los 13 mm en el primer año de vida, 25 mm para el segundo año y 30 mm para el tercero. Ocasionalmente apareció algún individuo de 4 y 5 años. La talla de primera captura es 25 mm, por lo que la flota pesquera explota parte de la segunda clase de edad y la tercera, en esta zona del Golfo de Cádiz.

INTRODUCCIÓN

C. gallina es un bivalvo de amplia distribución en el Golfo de Cádiz (SO España, Fig. 1), donde habita fondos de arena y fango entre los 5 y 20 m de profundidad. Esta es la principal especie objetivo de una importante flota comercial cuyo volumen anual de capturas excede las 3000 toneladas con un precio de mercado que oscila entre los 3 y 4 euros/kg. La gestión de una pesquería requiere tanto la recopilación periódica de información del estado del caladero (evaluación de la biomasa y mortalidad pesquera), como el conocimiento exhaustivo de parámetros biológicos y poblacionales de la especie explotada. De ahí que resulte imprescindible conocer tanto la estructura de su población como su tasa de crecimiento.

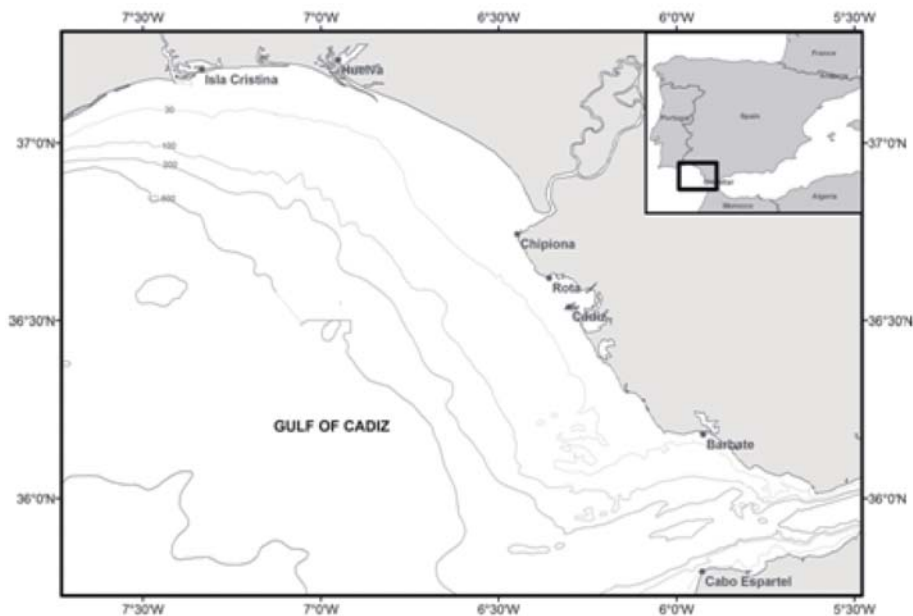


Figura 1.- Mapa del Golfo de Cádiz.

En el estudio del crecimiento de bivalvos se han venido usado diferentes metodologías como el análisis de la distribución de frecuencias de tallas, anillos superficiales de crecimiento, bandas internas de crecimiento o experiencias de marcado y recaptura. Algunas de estas metodologías ya han sido empleadas en poblaciones mediterráneas (Deval, 2001; Ramón y

Richardson, 1992; Frogliá, 2000; Cano y Hernández, 1987) y atlánticas (Royo, 1984; Gaspar *et al.*, 2004; Silva y Juárez, 2009) de *C. gallina*.

El principal objetivo de este trabajo ha sido estimar la edad y crecimiento de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz (margen sudatlántico español), mediante el análisis de la distribución de frecuencias de tallas, de las marcas superficiales y de marcas internas de crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio comprendió el margen español del Golfo de Cádiz. Las muestras se tomaron mensualmente a lo largo de un año (mayo 2010-abril 2011) a bordo de buques comerciales pertenecientes a la flota de dragas hidráulicas con base en el puerto de Sanlúcar de Barrameda (Cádiz). De cada individuo muestreado se tomaron medidas (mm) de longitud, altura, anchura y peso (g). Para la determinación de las claves talla-edad se emplearon tres técnicas diferentes:

1. *Análisis de la distribución de frecuencias de tallas*: en el mes de agosto (inicio de la deposición del anillo anual) se tomó una muestra de más de 2000 individuos para obtener la distribución de frecuencias de tallas. La distribución se dividió en cohortes, asumiendo que representaban clases de edad diferenciadas, mediante el uso del programa FISAT II (Método Battacharya; Gayanilo *et al.*, 2002).
2. *Análisis de anillos superficiales de crecimiento*: cada mes se tomaron 15 individuos de longitud superior a los 25 mm, a los que se les examinó la presencia de anillos externos anuales en la valva derecha.
3. *Análisis de las bandas internas de crecimiento*: un total de 53 individuos se destinó al estudio de las pautas de microcrecimiento mediante la técnica de las réplicas de acetato. La valva izquierda de cada individuo se incluyó en resina polyester, se seccionó y pulió. A continuación, se prepararon las réplicas de acetato para la lectura de pautas de microcrecimiento a microscopio óptico y según metodología descrita en Gaspar *et al.* (2004).

Las curvas de crecimiento de Von Bertalanffy (VBG) se ajustaron separadamente para cada una de las claves talla-edad obtenidas mediante cada una de las técnicas empleadas y utilizando la regresión mediante mínimos cuadrados (método de Gauss-Newton).

RESULTADOS

En la tabla I se presentan las relaciones alométricas de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz.

Tabla I.- Parámetros estimados de las relaciones alométricas de *C. gallina*.

	a	b	r	
Longitud-Altura	0,9187	1	0,9953	Isometría
Longitud-Anchura	0,5835	0,9723	0,9835	Alometría negativa
Longitud-Peso	0,0005	2,8624	0,9935	Alometría negativa

Los resultados obtenidos en crecimiento absoluto permitieron obtener las claves talla-edad mediante las tres técnicas utilizadas. Mediante el análisis de frecuencia de tallas solo fue posible distinguir tres clases de edad (Fig. 2). El análisis de anillos superficiales (Fig. 3) y bandas internas permitió distinguir individuos de 4 y 5 años, si bien, su presencia fue muy escasa. En el análisis de las bandas internas de crecimiento la capa prismática externa reveló el patrón de crecimiento de esta especie (Fig. 4). Las bandas se depositaron como líneas estrechas y oscuras paralelas al margen ventral de la valva y fueron indicativas de periodos de crecimiento lento. Éstas se encontraban separadas por zonas traslúcidas, denominadas incrementos de crecimiento, que indicaron periodos rápidos de crecimiento. La frecuencia, alternancia y amplitud de estas bandas definieron el patrón de crecimiento de esta especie en aguas del Golfo de Cádiz. La tabla II muestra la edad y correspondiente longitud media (\pm s.d) obtenidas mediante cada uno de los métodos empleados. En el caso del análisis de anillos internos el resultado fue: 1 año (12,70 \pm 3,21 mm), 2 años (25,82 \pm 2,64), 3 años (30,45 \pm 1,78), 4 años (35,51 \pm 1,20) y 5 años (37,34 \pm 0,80).

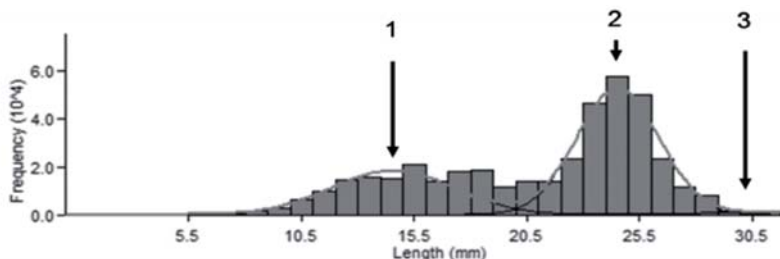


Figura 2.- Distribución de frecuencias de tallas de la población de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz en el mes de agosto de 2010. Representación de los componentes determinados por el método de Battacharya.

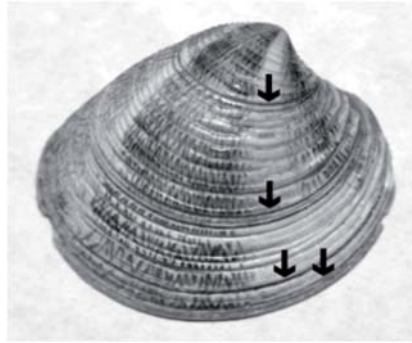


Figura 3.- Detalle de las valvas de *C. gallina*. Lectura de anillos anuales superficiales de un individuo de 35.17 mm de longitud.

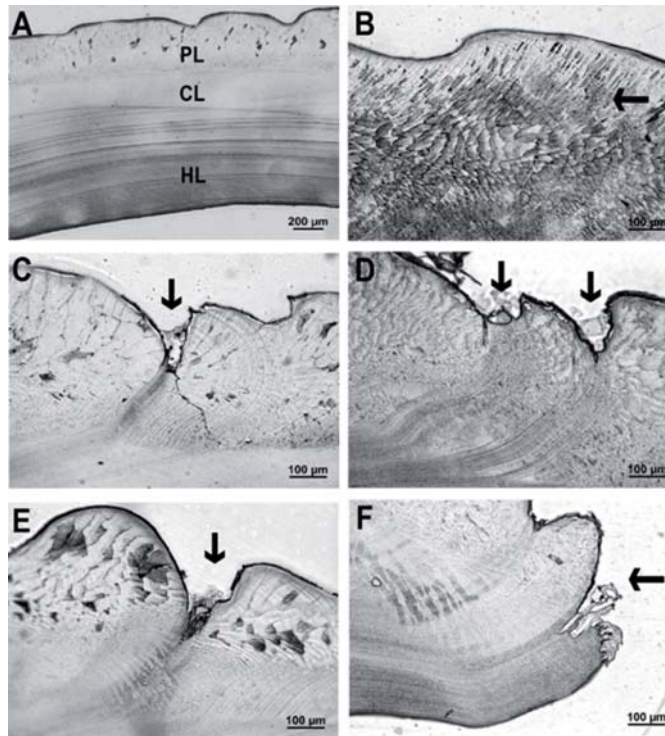


Figura 4.- Microfotografías de las réplicas de acetato de secciones de valvas incluidas en resina. A. Capas de las valvas (PL: capa prismática externa, CL: capa entrecruzada media y HL: capa homogénea interna). B. Bandas de crecimiento. C. Primer anillo anual (→). D. Segundo anillo anual incluyendo la formación de dos “clefts” (→). E. Falso anillo (→). F. Anillo anual al final de la valva (→).

Las curvas de crecimiento de Von Bertalanffy estimadas a partir de cada una de las claves talla-edad fueron:

$$L_t = 44,30 [1 - e^{-0,38(t + 0,04)}]$$

$$L_t = 36,11 [1 - e^{-0,67(t - 0,26)}]$$

$$L_t = 36,11 [1 - e^{-0,79(t + 0,45)}]$$

Tabla II.- Longitud media (\pm s.d.) y edad de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz, obtenidas a partir de los tres métodos empleados: lectura de anillos externos, anillos internos y distribución de frecuencias de tallas (método de Battacharya).

Método	Edad (años)	Longitud media \pm SD	Longitud (mm)	
			Max.	Min.
Anillos externos	1	14,04 \pm 3,20	23,60	7,20
	2	24,98 \pm 1,90	33,14	19,09
	3	30,04 \pm 1,52	34,10	24,34
	4	35,17 \pm 1,70	37,43	33,36
	5	38,55 \pm 2,67	40,44	36,66
Anillos internos	1	12,70 \pm 3,21	21,41	7,97
	2	25,82 \pm 2,64	32,04	20,87
	3	30,45 \pm 1,78	33,02	26,36
	4	35,51 \pm 1,20	36,41	34,14
	5	37,34 \pm 0,80	37,90	36,77
Battacharya	1	14,56 \pm 2,73		
	2	24,54 \pm 1,83		
	3	30,00 \pm 2,91		

DISCUSIÓN

Los datos de crecimiento relativo muestran que *C. gallina* presenta un crecimiento isométrico en su relación longitud-altura en concordancia con los datos presentados por autores como Valli y Zecchini-Pineisch (1982) o Cano y Hernández (1987), y sin embargo difieren considerablemente de la relación presentada por Gaspar *et al.* (2002) en el margen portugués del Golfo de Cádiz. La relación longitud-anchura también dista de la presentada por Gaspar *et al.* (2002) en la región vecina. Por último, nuestros datos respecto a la relación longitud-peso son similares a los mostrados por Silva y Juárez (2009) para la misma zona y por Ramón (1993) para una población mediterránea.

Respecto a los datos de crecimiento absoluto, este trabajo representa la segunda estimación de edad y tasas de crecimiento de *C. gallina* en una población atlántica usando las técnicas de análisis de distribución de frecuencias de tallas, de anillos superficiales y bandas internas de crecimiento, y la primera en la población del margen español del Golfo de Cádiz utilizando la técnica de réplicas de acetato. A la vista de los resultados obtenidos, podemos decir que la población de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz consta de tres clases de edad bien definidas, con tallas en torno a los 13 mm para el primer año, 25 mm para el segundo año y 30 mm para el tercero. Las curvas VBG indicaron que *C. gallina* crece relativamente rápido los dos primeros años, y a partir de entonces, el crecimiento se ralentiza paulatinamente. Aunque ocasionalmente, aparecieron individuos de 4 y 5 años, hemos de apuntar que se trató de especímenes muy poco frecuentes. La escasa presencia de individuos de mayor edad (>4 años) puede deberse a causas inherentes a la biología de la especie (periodo de vida), pero también hemos de tener en cuenta que estos individuos conforman la fracción de la población sometida a la extracción del caladero por la flota dedicada a la pesquería de la chirla en el Golfo de Cádiz. Se concluye que la talla mínima de captura estipulada para la chirla (25 mm longitud) se alcanza en torno a los dos años, y que la fracción correspondiente a 3 años es muy inferior. La flota explota, por tanto, la escasa tercera clase de edad y parte de la segunda clase de edad de esta especie.

Aunque las claves talla-edad obtenidas mediante los tres métodos presentan cierta similitud, se observaron diferencias en las curvas de crecimiento (VBG), sobre todo en el caso del uso de la distribución de frecuencias de tallas. En este sentido, ciertos autores (Seed, 1976) desaconsejan el uso de este método para estimar la tasa de crecimiento en poblaciones con amplios periodos de reclutamiento y tasas de crecimiento individual muy variables, como puede ser el caso de *C. gallina*. Concordamos con Gaspar *et al.* (2004) en que la edad de la población en *C. gallina* para la estimación de los parámetros de la VBG debe

realizarse usando la técnica de las réplicas de acetato, y de este modo evitar incertidumbres que terminen afectando a las recomendaciones en la gestión del recurso.

CONCLUSIONES

- ❖ La población de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz consta de 3 clases de edad bien definidas con tallas medias en torno a los 13 mm para el primer año, 25 mm para el segundo y 30 mm para el tercero. La talla de primera captura de esta especie en el Golfo de Cádiz es de 25mm, por lo que la flota pesquera ejerce su presión sobre la segunda y tercera clase de edad de esta población.
- ❖ La estimación de los parámetros de la VBG debe realizarse usando la técnica de las réplicas de acetato en esta especie.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la participación en los muestreos y diferentes tareas del estudio a los compañeros del C.O. Cádiz, especialmente a Ana Juárez. Agradecemos la colaboración de los observadores a bordo de la Junta de Andalucía, así como, del sector pesquero en la obtención de muestras. El estudio ha sido financiado por el proyecto: “Análisis de la población de chirla, como especie de interés pesquero, en la reserva de pesca de la desembocadura del río Guadalquivir” mediante convenio de colaboración entre el Instituto Español de Oceanografía y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

BIBLIOGRAFÍA

- Cano, F.V. y Hernández, J.M. 1987. Biometría y reproducción de *Chamelea gallina* L. en la Bahía de Mazarrón (SE de la Península Ibérica) y algunas consideraciones sobre su pesca. *FAO Fish Rep.*, 395: 107-111.
- Deval, M.C. 2001. Shell growth and biometry of the striped venus *Chamelea gallina* (L.) in the Marmara Sea, Turkey. *J. Shell. Res.*, 20: 155-159;

- Froggia, C. 2000. Il contributo della ricerca scientifica alla gestione della pesca dei molluschi bivalve con draghe idrauliche. *Biologia Marina Mediterranea*, 7: 71-82;
- Gaspar, M.B., Pereira, A.M., Vasconcelos, P. y Monteiro, C.C. 2004. Age and growth of *Chamelea gallina* from the Algarve coast (Southern Portugal): Influence of seawater temperatura and gametogenic cycle on growth rate. *J. Moll. Studies*, 70:371-377;
- Gaspar, M.B., Pereira, A.M., Vasconcelos, P. y C.C. Monteiro. 2002. Shell morphometric relationships of the most common bivalve species (Mollusca: Bivalvia) of the Algarve coast (southern Portugal). *Hydrobiologia*, 477: 73-80.
- Gayanilo, F.C., Sparre, P. y D. Pauly (eds.). 2002. FISAT II: FAO-ICLARM Fish Stock Assessments Tools (versión 1.0.0). FAO, Rome. World Wide Web Electronic Publications. URL://<http://www.fao.org/fi/statist/fisoft/fisat>.
- Ramón, M. 1993. Estudio d elas poblaciones de *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) y *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca: Bivalvia) en el Golfo de Valencia (Mediterráneo occidental). Tesis doctoral, Universidad de Barcelona. 413 pp.
- Ramón, M. y C.A. Richardson. 1992. Age determination and Shell growth of *Chamelea gallina* (bivalvia: Veneridae) in the western Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 89: 15-23.
- Royo, A. 1984. La chirla, *Venus gallina* L., en el litoral onubense. En: Actas Simposio Ibérico de Estudos do Bentos Marinho, 2: 49-66.
- Seed, R. 1976. Ecology. En: Marine mussels: their ecology and physiology (B.L. Bayne ed.), pp. 13-65.
- Silva, L. y A. Juárez. 2009. Estudio de la pesca de la chirla (*Chamelea gallina*) con dragas hidráulicas y rastros remolcados en el caladero del Golfo de Cádiz. Informe final del convenio de colaboración entre la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía y el Instituto Español de Oceanografía. 124 pp.
- Valli, G. y Zecchini-Pineish, G. 1982. Considerazioni sulla biometria e la riproduzione di *Chamelea gallina* (Mollusca: Bivalvia) del Golfo di Trieste (Alto Adriatico). *Nova Thalassia* 5: 57-73.

Edad y crecimiento de *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) en el Golfo de Cádiz

Marina Delgado, Luis Silva y Elena Martínez
 Instituto Español de Oceanografía, C.O. Cádiz.
 E-mail: marina.delgado@cd.ieo.es

Introducción

C. gallina es un bivalvo ampliamente distribuido en el Golfo de Cádiz (SO, España; Fig. 1), donde habita fondos de arena y fango entre los 5 y 20 m de profundidad. Esta es la principal especie objetivo de una importante flota comercial cuyo volumen anual de capturas excede las 3000 toneladas con un precio de mercado que oscila entre los 3 y 4 euros/kg. La gestión de una pesquería requiere tanto la recopilación periódica de información del estado del caladero (evaluación de la biomasa o mortalidad pesquera), como el conocimiento exhaustivo de parámetros biológicos y poblacionales de la especie explotada. De ahí que resulte imprescindible conocer tanto la estructura de su población como su tasa de crecimiento.

En el estudio del crecimiento de esta especie se han venido utilizando diversas metodologías en poblaciones mediterráneas (Cano y Hernández, 1987; Ramón y Richardson, 1992; Deval, 2001; Frogia, 2000) y atlánticas (Roy, 1984; Gaspar et al., 2004; Silva y Juárez, 2009). El principal objetivo de este estudio ha sido: estudiar la edad y crecimiento de *C. gallina*, así como, realizar un análisis metodológico comparativo en la población del Golfo de Cádiz (margen sudatlántico español).

Materiales y métodos

Se realizaron muestreos con una periodicidad mensual a lo largo de un año (mayo 2010 – abril 2011) a bordo de buques comerciales. Se tomaron datos de longitud, altura, anchura y peso vivo de cada individuo muestreado. Para la determinación de las claves talla edad y patrón de crecimiento se emplearon tres técnicas diferentes:

(1) Análisis de la distribución de frecuencias de tallas: En el mes de agosto (inicio de la deposición del anillo anual) se tomó una muestra de más de 2000 individuos para obtener la distribución de frecuencias de tallas. La distribución se dividió en cohortes, asumiendo que representan clases de edad diferenciadas, mediante el uso del programa FSAT II (Método Battacharya; Gavrilov et al. 2002) (Fig. 2).

(2) Análisis de anillos superficiales de crecimiento: Cada mes se tomaron 15 individuos de longitud superior a los 25 mm, a los que se les examinó la presencia de anillos externos anuales en la valva derecha (Fig. 3).

(3) Análisis de los bandos internos de crecimiento: Un total de 53 individuos se destinó al estudio de las pautas de microcrecimiento mediante la técnica de las réplicas de acetato. La valva izquierda de cada individuo se incluyó en resina poliestireno; se seccionó y pulió. A continuación, se prepararon las réplicas de acetato para la lectura de pautas de microcrecimiento a microscopio óptico y según metodología descrita en Gaspar et al. (2004) (Fig. 4).

Las curvas de crecimiento de Von Bertalanffy (VBG) se ajustaron separadamente para cada una de las claves talla-edad obtenidas mediante cada una de las técnicas empleadas y utilizando la regresión mediante mínimos cuadrados (método de Gauss-Newton).

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se presentan las relaciones alométricas de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz. La tabla 2 muestra la talla media y edad correspondiente, obtenida mediante cada método. Las curvas de crecimiento de Von Bertalanffy estimadas a partir de cada una de las claves talla-edad fueron:

$$(1) L_{\infty} = 44.30 [1 - e^{-0.388(t-0.04)}]$$

$$(2) L_{\infty} = 36.11 [1 - e^{-0.827(t-0.20)}]$$

$$(3) L_{\infty} = 36.11 [1 - e^{-0.793(t-0.04)}]$$

Estas curvas indican que *C. gallina* crece relativamente rápido los dos primeros años, y a partir de entonces, el crecimiento se ralentiza paulatinamente. Aunque ocasionalmente, aparecieron individuos de 4 y 5 años, hemos de apuntar que se trató de especímenes muy poco frecuentes, por lo que debemos considerar que la población de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz consta de tres clases de edad bien definidas, con tallas en torno a los 13 mm para el primer año, 25 mm para el segundo año y 30 mm para el tercero. La escasa presencia de individuos de mayor edad puede deberse a causas inherentes a la biología de la especie (período de vida), pero también hemos de tener en cuenta que estos individuos conforman la fracción de la población sometida a la extracción del caladero por la flota dedicada a la pesquería de la chirla en esta zona. Se concluye pues, que la talla mínima de captura estipulada para la chirla (25 mm longitud) se alcanza en torno a los dos años, y que la fracción correspondiente a 3 años es muy inferior. La flota explota, por tanto, la escasa tercera clase de edad y parte de la segunda clase de edad.

Aunque las claves talla-edad obtenidas mediante los tres métodos presentan cierta similitud, se observaron diferencias en las curvas de crecimiento (VBG), sobre todo en el caso del uso de la distribución de frecuencias de tallas. En este sentido, ciertos autores (Seed, 1976) desaconsejan el uso de este método para estimar la tasa de crecimiento en poblaciones con amplios períodos de reclutamiento y tasas de crecimiento individual muy variables, como puede ser el caso de *C. gallina*. Concordamos con Gaspar et al. (2004) en que la edad de la población en *C. gallina* para la estimación de los parámetros de la VBG debe realizarse usando la técnica de las réplicas de acetato, y de este modo evitar incertidumbres que terminen afectando a las recomendaciones en la gestión del recurso.

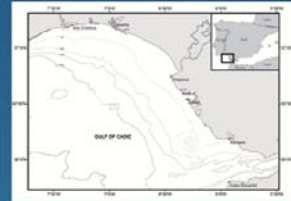


Figura 1. Mapa del Golfo de Cádiz.

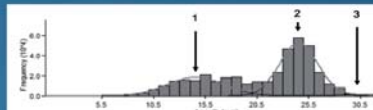


Figura 2. Distribución de frecuencias de tallas de la población de *C. gallina* en el Golfo de Cádiz en el mes de agosto de 2010. Representación de los componentes determinados por el método de Battacharya.



Figura 3. A. Detalle de las valvas de *C. gallina*. B. Lectura de anillos anuales externos en la valva de un individuo de 35.17 mm de longitud.

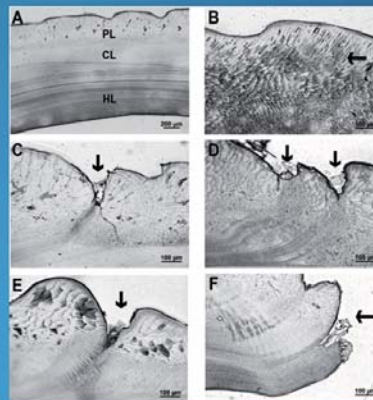


Figura 4. Microfotografías de las réplicas de acetato de secciones de valvas incluídas en resina. A. Capas de las valvas (PL: capa prismática externa, CL: capa entrocálcica media y HL: capa homocálcica interna). B. Bandas de crecimiento. C. Primer anillo anual (→). D. Segundo anillo anual incluyendo la formación de dos "clefts" (→). E. Falta anillo (→). F. Anillo anual al final de la valva (→).

Tabla 2. Edad y longitud media (± d.e.) de *C. gallina* obtenida mediante los 3 métodos empleadas.

Método	Edad (años)	Longitud media (mm)	
		Mín.	Máx.
(1) Battacharya	1	14.58±2.73	
	2	24.54±1.83	
	3	30.00±2.91	
(2) Anillos externos	1	14.04±1.20	23.60 7.20
	2	24.38±1.30	33.14 18.09
	3	30.04±1.52	34.10 24.34
(3) Anillos internos	4	35.17±1.70	37.43 33.36
	5	35.55±1.67	40.44 35.66
	1	13.70±0.21	21.41 7.97
	2	25.82±1.64	32.04 20.87
	3	30.85±1.78	33.02 26.36
4	35.11±1.20	36.41 34.14	
5	37.34±0.80	37.96 36.77	

Tabla 1. Relaciones alométricas de *C. gallina*.

Relación	a	b	r ²
Longitud-altura	0.9187	1	0.9953
Longitud-anchura	0.5835	0.9723	0.9835
Longitud-peso	0.0005	2.8624	0.9935

Referencias

Cano, F.J. y M. Hernández (1987). *FAO Fish Rep.*, 395: 107-111.
 Deval, M.C. (2001). *Sci. Rep.*, 20: 155-159.
 Frogia, C. (2000). *Biol. Mar.*, 7: 71-82.
 Gaspar, M.B., P. Pérez, A.B. Vázquez, R. y C.C. Rodríguez (2004). *J. Mar. Syst.*, 13: 211-217.
 Gavrilov, L. y G. Peto (2002). *Stat. Med.*, 21: 1001-1013.
 Roy, A. (1984). *Actas Simposio Biología del Golfo de Cádiz*, 1: 19-23.
 Seed, B. (1976). *Marine Biology*, 35: 1-10.
 Silva, M. y E. Martínez (2009). *Marine Biology*, 156: 1-10.

Agradecimientos

Queremos agradecer la participación en los muestreos y diferentes tareas del estudio a los compañeros del C.O. Cádiz, especialmente a Ana Juárez. Agradecemos la colaboración de los observadores a bordo, así como, del sector pesquero en la obtención de muestras. Este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración del Dr. Miguel Gaspar (PMAR, Orlas, Portugal). El estudio ha sido financiado por el proyecto "Medios de la población de chirla, como especie de interés pesquero, en la reserva de pesca de la desembocadura del río Guadalquivir" mediante convenio de colaboración entre el Instituto Español de Oceanografía y la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.



Efecto de distintos tipos de iluminación en el cultivo de las paralarvas del pulpo común (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797)

Garrido¹ D., Reis^{2,3} D., Oro³ D., Gonçalves² R., Martín¹ M.V., Sykes² A.V., Rodríguez³ C., Felipe¹ B.C., Santamaría¹ F.J., Zheng⁴ X., Almansa¹ E.

¹IEO. COC Canarias, Santa Cruz de Tenerife, España.

²CCMAR-CIMAR L.A., Centro de Ciências do Mar do Algarve, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139, Faro, Portugal.

³Universidad de La Laguna, Facultad de Biología, 38206, San Cristobal de La Laguna, España.

⁴Ocean University of China, Qingdao, China.

diego.garrido@ca.ieo.es

RESUMEN

El pulpo común (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) es una especie con potencial para la acuicultura, debido a sus características biológicas y alto valor de mercado. Sin embargo, el desarrollo de su cultivo pasa por superar la elevada mortalidad de las paralarvas debida a problemas zootécnicos y nutricionales. Uno de los factores que más afecta al bienestar de las paralarvas es la luz y el entorno. En este sentido, la luz natural del medio salvaje donde viven, difiere de la luz artificial en características tales como la polarización o el cambio de su espectro con la profundidad. En el presente trabajo se realizan tres tipos de ensayos. En el primero, se estudia el efecto de la luz polarizada en la predación de las paralarvas de *O. vulgaris* usando como presas *Artemia* y una especie de copépodo (*Tisbe* sp.). En el segundo, se emplearon filtros de absorción para simular las condiciones de luz a 20-40 m consiguiendo un espectro de luz equivalente a la profundidad habitual donde se encuentran los ejemplares salvajes. En el tercero, se estudió la atracción que muestran las paralarvas en cultivo hacia los reflejos de luz en la pared de los tanques, lo que conlleva un incremento en

las interacciones con esta superficie y la posible aparición de lesiones. En estos dos últimos ensayos se analizó el efecto sobre el crecimiento y la supervivencia de las paralarvas. La luz polarizada no influyó en la tasa de predación de las paralarvas. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas en el mayor consumo de *Artemia* respecto a los copépodos, independientemente del tipo de luz empleado. El uso del filtro de absorción no mostró diferencias en crecimiento y supervivencia, no obstante, evitó el uso de luz artificial en el cultivo de paralarvas. Finalmente, el reflejo de la luz en las paredes del tanque tampoco parece afectar al crecimiento, supervivencia o a la presencia de lesiones, a pesar del mayor número de interacciones observado en estas paralarvas con las superficies del tanque.

INTRODUCCIÓN

El pulpo común (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) es una especie de gran interés para la diversificación de la acuicultura. Su fácil adaptación a las condiciones de cautividad, alta tasa de crecimiento y reproducción, elevado valor económico, gran demanda en los mercados y su dramático descenso en las capturas lo convierten en un candidato ideal (Vaz-Pires *et al.*, 2004). Sin embargo, el éxito en el ciclo de producción del pulpo común exige superar algunos de los cuellos de botella que impiden su cultivo en cautividad tanto desde el punto de vista nutricional como zootécnico (Iglesias *et al.*, 2007). La supervivencia de las paralarvas pasa por encontrar una presa con una composición de nutrientes adecuada y que además pueda ser fácilmente detectada por las paralarvas, evitando así un mayor gasto energético en la búsqueda de estas presas. La luz y el entorno son algunos de los factores que más influyen en el cultivo de cefalópodos afectando tanto a la supervivencia y crecimiento, como a la captura de las presas (Fernández-López *et al.*, 2005; Okumura *et al.*, 2005; Márquez *et al.*, 2007; Sykes *et al.*, 2011). La luz artificial empleada habitualmente en condiciones de cultivo difiere en muchas características de la luz natural a la que las paralarvas están adaptadas en su medio. Entre estas características se puede mencionar la polarización de la luz y la absorción de sus diferentes longitudes de onda según la profundidad y las condiciones físico-químicas del agua (Shashar *et al.*, 2004; Wozniak y Dera, 2007). En los océanos la luz natural es dispersada en gran parte por las moléculas de agua, transformando la luz del sol en luz polarizada. Muchos organismos marinos perciben este tipo de luz empleándola en su desplazamiento, la búsqueda de alimento (facilitando la detección de presas con alto grado de transparencia) y la comunicación entre congéneres (ya que algunos objetos y animales pueden producir su propio patrón de polarización) (Shashar *et al.*, 1998; 2004). De hecho, en estudios realizados en ejemplares de pulpos adultos se demostró su sensibilidad a la luz polarizada (Moody y Parriss, 1961; Shashar y Cronin, 1996). Esta característica se piensa que

es común en las paralarvas, sin embargo no se han realizado investigaciones al respecto, ni se ha ensayado el efecto de la luz polarizada en la captura de presas (Villanueva y Norman, 2008). Según Villanueva *et al.* (1996), diferentes presas podrían inducir diferentes tipos de comportamiento en el predador. La *Artemia* es la presa más utilizada en el cultivo de paralarvas de pulpo dada su disponibilidad y fácil manejo, sin embargo su perfil nutricional no es adecuado para el desarrollo de las paralarvas (Iglesias *et al.*, 2007; Villanueva & Norman, 2008). Una posible alternativa es el uso de copépodos durante esta fase, dado que su perfil nutricional es más adecuado que el de la *Artemia* para las fases larvarias de especies marinas (FAO, 1996). Boletzky y Halon (1983) sugieren que los copépodos pueden ser un alimento adecuado para los cefalópodos recién eclosionados dado, que estas presas presentan un movimiento de natación errático que les puede hacer más atractivos para el pulpo. Algo similar ocurre con las zoeas de crustáceos que son, a su vez, el alimento preferido por las paralarvas de esta especie (Iglesias *et al.*, 2007; Roura *et al.*, 2012). Estudios previos han empleado al copépodo (*Acartia tonsa*, Dana 1849) junto con nauplios de *Artemia* en el cultivo de paralarvas de pulpo, mejorando su supervivencia (Iglesias *et al.*, 2007). Sin embargo, hay que señalar que Roura *et al.* (2012) no detectaron copépodos en la dieta de las paralarvas salvajes del pulpo común, aún siendo elevada la abundancia de este grupo en el medio.

En el medio natural se encuentran diferencias en el espectro de luz, según la profundidad, dado que los niveles de irradiancia se ven reducidos conforme aumenta esta profundidad. Las distintas longitudes de ondas son absorbidas en distintos grados, siendo el rango azul-verde claro ($\lambda \approx 450$ nm) el que alcanza mayor profundidad en aguas oceánicas (Wozniak & Dera, 2007). Según Mangold (1983) y Otero *et al.* (2009) las paralarvas de *O. vulgaris* se distribuyen entre 20-100 m de profundidad en el medio natural. Para simular las condiciones de irradiancia que tiene lugar a estas profundidades se pueden usar filtros específicos que absorben de manera diferencial los distintos rangos del espectro luminoso (Kiefer y Strickland, 1970).

En ensayos previos relacionados con la iluminación y el color del tanque, realizados en nuestro laboratorio, se observó que las paralarvas tendían a irse a las paredes cuyo color presentaba un reflejo más intenso (datos no publicados). En estos estudios se detectó un número significativo de paralarvas junto a las paredes, observándose frecuentes colisiones con estas. Este comportamiento puede dar lugar a erosiones del manto y brazos, similares a las descritas por Vidal *et al.* (2002), y por tanto, afectar al desarrollo y supervivencia de las paralarvas. Sin embargo, se observó que cuando se eliminaron estos reflejos las larvas se alejaban de la pared. Este comportamiento puede estar relacionado con lo descrito por Villanueva & Norman (2008), según el cual los pulpos recién eclosionados y paralarvas parecen presentar un fototactismo positivo. En este sentido, ensayos realizados en individuos recién eclosionados y juveniles de *Sepia officinalis* mostraron cómo los tanques de color negro mejoraban la supervivencia y el crecimiento del cultivo debido entre otras causas, a una menor reflexión

de la luz (Sykes *et al.*, 2011).

En el presente trabajo, se simularon en los tanques de cultivo varias características del comportamiento de la luz en el medio natural. Por un lado, se estudió el efecto de la luz polarizada en la predación de las paralarvas de *O. vulgaris* usando como presas la *Artemia* y una especie de copépodo (*Tisbe* sp.). Por otro lado, se emplearon filtros específicos para conseguir un espectro de luz equivalente a una profundidad de 20-40 m (profundidad habitual de los ejemplares salvajes), estudiando su efecto sobre el crecimiento y la supervivencia. Por último, se analizó cómo pueden verse afectados el crecimiento y la supervivencia cuando se elimina el reflejo de la luz en las paredes de los tanques, reduciendo el contacto de las paralarvas con estas superficies.

MATERIALES Y MÉTODOS

REPRODUCTORES DE PULPO

Los ejemplares adultos fueron capturados en las costas de Tenerife. Los individuos ($n=10$) con un peso medio de 1.309 ± 503 g fueron estabulados en tanques de fibra de vidrio de 1.000 L, en circuito abierto con un caudal de 5 L/min y fotoperiodo natural, la temperatura fue de $18,9 \pm 0,64^\circ\text{C}$ y la salinidad $36,8 \pm 0,14$ PSU.

Se estabularon tres individuos por tanque, con peso similares y asegurando una relación de 2 hembras por macho ($2\text{♀}:1\text{♂}$). Los adultos fueron alimentados *ad libitum* con calamar (*Loligo opalescens*) y gamba (*Penaeus vannamei*), diariamente se verificaba la presencia de hembras con puestas y si se observaba algún caso, estas eran individualizadas en un tanque del mismo volumen.

LUZ POLARIZADA Y CONSUMO DE PRESAS

Este experimento se desarrolló adaptando la metodología de Márquez *et al.* (2007) sobre la predación de las paralarvas. Se usaron dos tanques de 50 L rectangulares y se cubrieron los mismos para evitar la entrada de luz, excepto por una abertura donde se colocaron lentes polarizadas (P) o no polarizada (NP). Ambos tipo de lentes (color gris) fueron suministradas por Washin Korea S.A (Corea). La iluminación se realizó mediante una bombilla incandescente de 100 W, asegurando que la intensidad lumínica en el interior del tanque fuese de 100 lux.

Se probaron dos tipos de presas, por un lado Artemia (*Artemia* sp. SepArt; EG, INVE AQUACULTURE, Bélgica) y por otro copépodos (*Tisbe* sp.) que fueron recolectados en los tanques de *Brachionus plicatilis* de nuestras instalaciones. En los tanques experimentales, se colocaron 6 vasos de precipitado de 50 mL con 50 presas y una paralarva en cada uno de ellos. De esta forma, cada tipo de presa se testó por triplicado para ambos tipos de luz (P y NP). Transcurridas 24 horas, se hizo recuento del número de presas consumidas por cada paralarva. A lo largo del desarrollo del experimento la temperatura osciló entre 21,5-23,7°C. Se hicieron dos ensayos de cada experimento para confirmar los resultados obtenidos.

CULTIVO DE PARALARVAS EN 100 L

El ensayo tuvo una duración de 15 días y se llevó a cabo en tanques troncocónicos de 100 L de paredes negras y fondo blanco, en circuito abierto, con un caudal de 1 mL/s (renovación 86%/día). La densidad del cultivo fue de 3 paralarvas por litro (300 paralarvas/tanque). Todos los tanques se alimentaron una vez al día con nauplios de Artemia a una densidad de 0,05-0,1 nauplios/mL. Los nauplios fueron previamente enriquecidos durante 24 horas con *Nannochloropsis gaditana* liofilizada (Ng; Fitoplancton marino S.L. Cádiz, España). El enriquecimiento se realizó a una densidad de 2,4 artemias/mL y 10^7 células de Ng/mL. La temperatura y oxígeno se midieron a diario mediante un oxímetro (METER PRO ODO), registrándose valores de $20,1 \pm 0,26^\circ\text{C}$ y $101,5 \pm 1,8\%$ de saturación, respectivamente. Semanalmente, se analizó el pH ($8,0 \pm 0,1$) mediante un pHmetro (Hanna-HI-98107), nitritos ($<0,3$ ppm) y amonio (0-0,25 ppm) mediante kits TETRA para acuario.

Se llevaron a cabo tres tratamientos (6 réplicas por tratamiento), con distintas condiciones de iluminación:

❖ Control

En este tratamiento se empleó una bombilla incandescente de 40 W que generaba una iluminancia de 150-200 lux, con un fotoperiodo de 12L:12O. La iluminancia se midió mediante un luxómetro LUTRON LX-101.

❖ Filtro de absorción de luz

Se usó un filtro azul específico que imita las condiciones de irradiancia a una profundidad de entre 20-40 m (DC Servicios Ambientales, S/C de Tenerife, España). Se empleó luz natural la cual, osciló en la zona de trabajo entre los 90 lux (8:00h) y los 2.000 lux (14:00h). Los valores medidos bajo el filtro de absorción se encontraron entre los 53 y 832 lux, con una media de 241 lux.

❖ Eliminación del reflejo de la luz en la pared del tanque

En este ensayo se usó la misma fuente de luz que en el tratamiento control, pero se focalizó el haz de luz al fondo del tanque mediante un cilindro de PVC que impedía que la luz llegara de manera directa a las paredes del mismo. Con este procedimiento se eliminaron los reflejos en esta superficie y se ajustó la iluminancia para conseguir los mismos valores que en el tratamiento control (150-200 lux).

CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

En los ensayos con tanques de 100 L, se determinó el peso seco y la talla (longitud ventral y dorsal del manto – LVM y LDM). Para ello se tomaron 18 larvas iniciales y otras tantas de cada tratamiento al final de la experiencia (15 días). Con estos datos se determinaron los Índices Específicos de Crecimiento para el peso y las tallas, siguiendo la fórmula IEC (% $\text{Peso/talla} \cdot \text{día}^{-1}$) = $(\text{Ln } W_2 - \text{Ln } W_1)/t \cdot 100$, donde W_1 y W_2 son el peso/talla inicial y final. La supervivencia se calculó según la fórmula $S(\%) = (N_f/N_i) \cdot 100$, donde N_f y N_i son el número de individuos al final e inicio del experimento.

❖ Histología

En los tanques de 100 L de los tratamientos control y de luz no reflejada, se seleccionó aleatoriamente tres tanques de cada uno de ellos y se tomaron 10 paralarvas de cada tanque para realizar cortes histológicos y evaluar si existían diferencias entre los tratamientos a nivel de lesiones. El análisis histológico se llevó a cabo según Howard & Smith (1983), Spintzink *et al.* (2009) y Rodrigues *et al.* (2011). Las muestras fueron fijadas en formaldehído al 20:1 (volumen por muestras), seguido de la deshidratación en etanol (70%, 90% y 95%). Después se realizó la pre-infiltración, infiltración y polimerización con Heraeus Technovit 7100 (Heraeus Kulzer GmbH, Alemania). Las secciones transversales y longitudinales fueron cortadas a 3 μm en un microtomo Microm HM 340 E (Microm International GmbH, Alemania) y teñidas con azul de toluidina o hematoxilina-eosina o solución PAS. Las soluciones de tinción fueron adquiridas en Carl Roth GmbH + Co. KG (Alemania).

❖ Análisis de datos

Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar (DE). Se comprobó la normalidad de los datos con el test de Kolmogorov-Smirnoff para una muestra (Zar, 1999) así como la homogeneidad de la varianza con el test de Levene (Zar, 1999). Cuando fue necesario, se realizó la transformación de los datos a arcoseno. Para aquellos datos expresados como porcentaje, se aplicó directamente la transformación a arcoseno (Fowler *et al.*,

1998).

El efecto de la luz polarizada sobre el consumo de diferentes presas se analizó usando un análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías (Zar, 1999). Este test estadístico permitió comparar los cambios de ambos factores juntos, así como la interacción entre ellos. Cuando los datos no se ajustaban a la distribución normal y/o homogeneidad de la varianza, los datos eran sometidos a un test no paramétrico ANOVA de dos vías, basada en la transformación de rangos (Zar, 1999).

Los índices de crecimiento fueron evaluados mediante una ANOVA de una vía seguido por el test *a posteriori* de Tuckey (Zar, 1999). Cuando la distribución normal y/o homogeneidad de la varianza no se obtuvieron, se usó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido por el test *a posteriori* no paramétrico de Games-Howell (Zar, 1999). En todos los casos se consideró que un p-valor menor a 0,05 era diferente estadísticamente. El análisis estadístico se realizó empleando la versión 15.0 del paquete SPSS (SPSS Inc, Chicago, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla I se presentan los resultados del efecto de la luz polarizada en la predación de las paralarvas de *O. vulgaris*. El tipo de luz (no polarizada o polarizada) no afectó de manera significativa a la predación de las paralarvas. Diversos trabajos (Shashar *et al.*, 1998; Mäthger *et al.*, 2009) han demostrado que la luz polarizada puede ser detectada por los cefalópodos siendo útil en la detección de presas transparentes, ya que la polarización de la luz puede volver visibles a estas presas, delatando su presencia. Así mismo, modificaciones en la polarización pueden cambiar las preferencias de las paralarvas por ciertos tipos de presas (Shashar *et al.*, 2000). Sin embargo, los datos obtenidos bajo las condiciones de este ensayo sugieren que las paralarvas no muestran un comportamiento distinto ante la luz polarizada o la luz normal.

Tabla I.- Número de presas consumidas por las paralarvas de *O. vulgaris* bajo distintas condiciones de luz (Luz Polarizada (P) y Luz No Polarizada (NP)) y con distintos tipos de presas (*Artemia* sp. y copépodos-*Tisbe* sp.). Los asteriscos indican diferencias significativas en las variables estudiadas (** $p < 0,01$).

Luz	<i>Artemia</i> sp.		<i>Tisbe</i> sp.		(Two-way Anova)		
	NP	P	NP	P	Luz	Presa	Interacción
Prueba 1	32,0 ± 2,0	35,3 ± 2,3	19,0 ± 3,0	20,7 ± 4,2			**
Prueba 2	27,3 ± 8,1	30,0 ± 2,0	11,3 ± 2,3	10,7 ± 2,3			**

Respecto al tipo de presa empleado (*Artemia* sp. y *Tisbe* sp.), se encontraron diferencias significativas entre ellas, siendo la *Artemia* la presa más consumida por las paralarvas ($p < 0,01$). En nuestro experimento, las paralarvas llegaron a ingerir un máximo de 34 individuos por día con luz no polarizada y 38 individuos con luz polarizada. Esto contrasta con las 16 *Artemias* por día registradas por Márquez *et al.* (2007). No obstante, estas diferencias podrían ser explicadas por diversos factores, como el mayor volumen usado en nuestro estudio (50 mL vs 9,2 mL), la menor intensidad de luz (100 lux vs 750 lux), la menor densidad de presa (1 nauplio/mL vs 9,4 nauplios/mL) o la mayor temperatura de cultivo (22,6°C vs 20°C).

En cuanto al menor consumo de copépodos, este podría deberse a varias causas. Por un lado, los copépodos Harpacticoides, a los cuales pertenece el género *Tisbe*, tienen un estilo de vida mayoritariamente bentónico, lo cual podría limitar las posibilidades de encuentro con las paralarvas (de hábitos planctónicos), siendo inferior su consumo (Nanton y Castell, 1998). Por otro lado, se ha observado que las paralarvas pueden ser muy selectivas en su captura, seleccionando cuidadosamente a sus presas gracias a un complejo sistema de receptores (fotoreceptores, mecanoreceptores y quimiorreceptores) (Villanueva & Norman, 2008). No obstante, son necesarios más estudios con otros tipos de presas y diferentes entornos del medio de cultivo, para conocer mejor los efectos de la luz polarizada en estos animales.

Otros de los aspectos tratados en este estudio estaban relacionados con la supervivencia y el crecimiento de las paralarvas cuando se imitaban las condiciones de iluminación (intensidad y composición espectral) del agua de mar en nuestro medio de cultivo o se eliminaba la luz reflejada de las paredes de los tanques. En la tabla II podemos ver diferencias significativas en crecimiento entre las paralarvas iniciales y los distintos tratamientos a los 15 días de vida de las paralarvas. Los datos muestran que en todos los tratamientos se detectó un crecimiento con una IEC que osciló entre 4,29 y 6,44% de peso al día. Sin embargo, no se

observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

Los filtros de absorción azules han sido empleados en trabajos de producción primaria, corroborando los datos obtenidos en laboratorio con los del medio natural, al imitar dichas condiciones (Kiefer y Strickland, 1970). El uso de este filtro nos permitió trabajar con una intensidad luminosa media (bajo el filtro) de 241 lux, con un mínimo de 53 lux a primera hora de la mañana y asociado a condiciones atmosféricas de nubes, y un máximo de 832 lux correspondiente a medio día, con la alternancia entre nubes y claros. Estos valores se obtuvieron con una iluminancia en el área de trabajo donde se desarrolló el cultivo, que osciló entre los 90 lux y los 2.000 lux.

Tabla II.- Efecto de distintas condiciones de iluminación (filtro absorción y luz no reflejada) en paralarvas de *O. vulgaris*, sobre la longitud ventral del manto (LVM), longitud dorsal del manto (LDM), peso seco, supervivencia e índices específicos de crecimiento (IEC). Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las condiciones experimentales ($p < 0,05$).

	Inicial	Control	Filtro de absorción de luz	Luz no reflejada
LVM (mm)	1,47 ± 0,06 b	1,63 ± 0,11 a	1,58 ± 0,07 ab	1,70 ± 0,07 a
IEC LVM (%/día)		0,74 ± 0,49	0,50 ± 0,33	1,01 ± 0,28
LDM (mm)	1,91 ± 0,08 b	2,17 ± 0,13 a	2,10 ± 0,12 a	2,23 ± 0,12 a
IEC LDM (%/día)		0,89 ± 0,45	0,68 ± 0,41	1,09 ± 0,38
Peso seco (mg)	0,22 ± 0,03 b	0,45 ± 0,08 a	0,41 ± 0,10 a	0,56 ± 0,15 a
IEC peso (%/día)		4,92 ± 1,42	4,29 ± 1,74	6,44 ± 1,84
Supervivencia (%)		66,6 ± 11,7	60,4 ± 9,0	56,1 ± 11,4

El uso del filtro de absorción de luz ha permitido obtener resultados de cultivo con luz natural, semejantes a los obtenidos con luz artificial (tratamiento control). Esto es contrario a lo observado por Okumura *et al.* (2005) al usar este tipo de luz como fuente de iluminación. Estos autores observaron amplias variaciones en la iluminancia (100 lux-7.000 lux) a lo largo del día y entre los distintos tanques de un mismo tratamiento, sugiriendo que la mala supervivencia y las diferencias dentro de un mismo tratamiento fueron debidas a estas variaciones. El filtro usado en esta experiencia parece compensar este tipo de problemas pues los datos de supervivencia y crecimiento no han presentado diferencias respecto al tratamiento control con luz artificial (Tabla II). En este sentido, tampoco se observaron diferencias entre los

distintos tanques de un mismo tratamiento, a pesar de que se llegaron a detectar diferencias en la iluminancia (ej. 832 lux vs 161 lux bajo filtro). Estos resultados sugieren que este tipo de filtros pueden ser usados en sustitución de la luz artificial en este tipo de cultivos, imitando la intensidad y el espectro de luz en condiciones naturales, así como limitando los cambios de intensidad en la luz a lo largo del día, especialmente en las horas del crepúsculo.

La eliminación del reflejo de la luz en las paredes del tanque mostró una tendencia a un mayor crecimiento pero menor supervivencia de estas paralarvas respecto al grupo control, aunque las diferencias no fueron significativas (Tabla II). En el tratamiento control, donde no se eliminaron los reflejos de las paredes, se observó un mayor número de paralarvas interaccionando con estas superficies. Sin embargo, los estudios a nivel histológico no encontraron lesiones en las paralarvas de este grupo control (Fig. 1). Estos resultados parecen opuestos a los descritos por Vidal *et al.*, 2002, Rodríguez *et al.*, 2006 o Iglesias *et al.*, 2007. Estos autores han detectado la presencia de daños en la piel de las paralarvas cultivadas bajo condiciones desfavorables tales como tanques pequeños, fuerte hidrodinamismo, refugios inadecuados o densidades de cultivo elevadas.

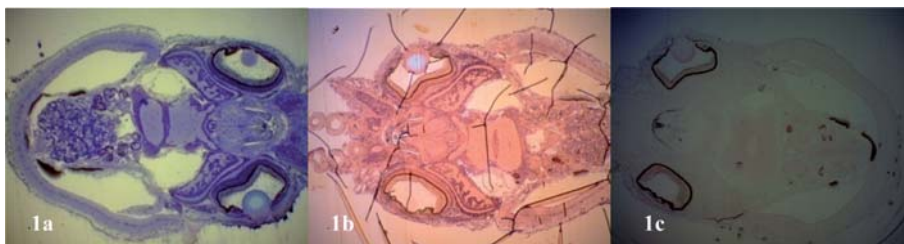


Figura 1. Cortes histológicos de paralarvas de *O. vulgaris*, [tratamiento control: **1a** (tinción azul de toluidina), **1b** (tinción hematoxilina-eosina) y **1c** (tinción PAS)].

CONCLUSIONES

La luz polarizada no influyó en la tasa de predación de las paralarvas. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas en el mayor consumo de *Artemia* respecto a copépodos, independientemente del tipo de luz empleado.

Respecto al tratamiento control, el filtro de absorción no mostró diferencias en crecimiento y supervivencia, no obstante, evitó el uso de luz artificial en el cultivo de paralarvas.

El reflejo de la luz en las paredes del tanque no parece afectar al crecimiento, supervivencia ni a la presencia de lesiones externas en las paralarvas del grupo control, a pesar de que estas presentaban un mayor número de interacciones con las superficies del tanque.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundação para a Ciência e Tecnologia por financiar el proyecto SEPIAMETA (PTDC/MAR/102348/2008) y a las becas de A.V. Sykes (SFRH/BPD/36100/2007) y de D. Reis (SFRH/BD/76863/2011). A la BECA FPI 2011 del Instituto Español de Oceanografía “Biomarcadores de estrés y metabolismo lipídico en las primeras fases de vida del pulpo común (*Octopus vulgaris*)” (BOE de 3 de noviembre de 2011). Al proyecto NUTRIPULPO financiado por JACUMAR 2010 (Gobierno de España).

BIBLIOGRAFÍA

- Boletzky S., Hanlon, R.T. 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Memoirs of the National Museum Victoria* 44: 147-187.
- FAO 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, No 361. 295p.
- Howard D.W. y Smith C.S. 1983. *Histological techniques for marine bivalve molluscs*. NOAA TM NMFS-F/NEC-25.
- Fernández-López A., Roo J., Socorro J., Hernández-Cruz M.C., Fernández-Palacios H., Izquierdo M.S. 2005. Crecimiento y supervivencia de paralarvas de *Octopus vulgaris* cultivadas bajo diferentes intensidades de luz.. Sesión de diversificación de Especies. *X Congreso Nacional de Acuicultura*, Valencia. Tomo II: 374-375
- Fowler J., Cohen L., Jarvis P. 1998. *Practical statistics for field biology*. John Wiley and sons Ltd, West Sussex, England. 259 pp.
- Iglesias J., Sánchez F.J., Bersano J.G.F., Carrasco J.F., Dhont J., Fuentes L., Linares F., Muñoz, J.L., Okumura S., Roo J., van der Meeren T., Vidal E.A.G., Villanueva R. 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266:1-15.
- Kiefer D., Strickland J.D.H. 1970. A comparative study of photosynthesis in seawater samples

- incubated under two types of light attenuator. *Limnol. Oceanogr.* 15: 408-412.
- Mangold K. 1983. *Octopus vulgaris*. En: *Cephalopod life cycles*, vol. 1, Boyle, P.R (ed.), Academic Press, London: 335-364.
- Márquez L., Quintana D., Almansa E., Navas, J.I. 2007. Effects of visual conditions and prey density on feeding kinetics of paralarvae of *Octopus vulgaris* from a laboratory spawning. *J.Mollus. Stud.*, 73: 117-121.
- Mäthger L.M., Shashar N., Halon, R. 2009. Do cephalopods communicate using polarized light reflections from their skin?. *J. Exp. Biol.*, 212: 2133-2140.
- Moody, M.F. & Parriss, J.R. 1961. The discrimination of polarized light by *Octopus*: a behavioural and morphological study. *J. Comp. Physiol. A* 44: 268-291.
- Nanton D.A., Castell, J.D. 1998. The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of the harpacticoid copepod, *Tisbe* sp., for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture* 163: 251-261.
- Okumura S., Kurihara A., Iwamoto A., Takeuchi, T. 2005. Improved survival and growth in *Octopus vulgaris* paralarvae by feeding large type *Artemia* and Pacific sandeel, *Ammodytes personatus*. *Aquaculture* 244: 147-157.
- Otero J., Álvarez-Salgado X.A., González A.F., Gilcoto M., Guerra, A. 2009. High-frequency coastal upwelling events influence *Octopus vulgaris* larval dynamic on the NW Iberian shelf. *Mar Eco-Prog Ser.* 386: 123-132.
- Paulson C.A., Simpson, J. J. 1977. Irradiance measurement in the upper ocean. *J. Phys. Oceanogr.* 7: 952-956.
- Rodrigues M., Guerra A., Troncoso, J.S. 2011. The embryonic phase and its implication in the hatchling size and condition of Atlantic bobtail squid *Sepiolo atlantica*. *Helgol Mar Res.*, 65:211-216.
- Rodríguez C., Carrasco J.F., Arronte J.C., Rodríguez, M. 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile ongrowing in floating cages. *Aquaculture* 254: 293-300.
- Roura Á., González Á.F., Redd K., Guerra, Á. 2012. Molecular prey identification in wild *Octopus vulgaris* paralarvae. *Mar. Biol.* 159: 1335-1345.
- Shashar N., Sabbah S., Cronin, T.W. 2004. Transmission of linearly polarized light in seawater: implications for polarization signaling. *J. Exp. Biol.* 207: 3619-3628.
- Shashar N., Hagan R., Boal J.G., Hanlon, R.T. 2000. Cuttlefish use polarization sensitivity in predation on silvery fish. *Vision Res.* 40: 71-75.
- Shashar N., Hanlon R.T., Petz A. de M. 1998. Polarization vision helps detect transparent prey. *Nature* 393: 222-223.

- Shashar N., Cronin, T. 1996. Polarization contrast vision in *Octopus*. *J. Exp. Biol.* 199: 999-1004.
- Spintzink J., Springer J., Westermann B. 2009. Morphological and histological organization of the pyriform appendage of the tetrabranchiate *Nautilus pompilius* (Cephalopoda, Mollusca). *J. Morphol.*, 270: 459-468.
- Sykes A.V., Domingues P.M., Márquez L., Andrade, J.P. 2011. The effects of tank colours on the growth and survival of cuttlefish (*Sepia officinalis*, Linnaeus 1758) hatchlings and juveniles. *Aquac. Res.*, 42: 441-449.
- Vaz-Pires P., Seixas P., Barbosa, A. 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238: 221-238.
- Vidal E.A.G., DiMarco F.P., Wormuth J.H., Lee, P.G. 2002. Optimizing rearing conditions of hatchling loliginid squid. *Mar. Biol.* 140: 117-127.
- Villanueva R., Norman, M.D. 2008. Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 46: 105-202.
- Villanueva R., Nozais C., Boletzky, S. 1996. Swimming behaviour and food searching in planktonic *Octopus vulgaris* Cuvier from hatching to settlement. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 208: 169-184.
- Wozniak B., Dera J. 2007. *Introduction: Absorption of Sunlight in the Ocean*. Atmospheric and Oceanographic Sciences Library 33(eds.) Light Absorption in Sea Water. pp1-10.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*. 4th Ed., Prentice Hall, Inc. New Jersey. 663 pp.



EFFECTO DE DISTINTOS TIPOS DE ILUMINACIÓN EN EL CULTIVO DE LAS PARALARVAS DEL PULPO COMÚN (*O. vulgaris* Cuvier, 1797)



Garrido D.¹, Reis D.^{2,3}, Orol D.³, Gonçalves R.², Martín M.V.¹, Sykes A.V.², Rodríguez C.³, Felipe B.C.¹, Santamaría F.J.¹, Zheng X.⁴, Almansa E.¹
¹ IED: IOC de Canarias, Santa Cruz de Tenerife, España. ² ICMAR-ICMAM L.A., Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139, Faro, Portugal. ³ Universidad de La Laguna, Facultad de Biología, 38206, San Cristóbal de La Laguna, España. ⁴ Ocean University of China, Qingdao, China. *e-mail: daga.garrido@ull.es

Introducción

El pulpo común (*O. vulgaris* Cuvier, 1797) es una especie con grandes posibilidades para la acuicultura, debido a sus características biológicas y alto valor de mercado. Sin embargo, el desarrollo de su cultivo pasa por superar la elevada mortalidad de las paralarvas debida a problemas nutricionales y zootécnicos. Uno de los factores que más afecta al bienestar de las paralarvas es el tipo de luz y su entorno. En este sentido, la luz natural del medio donde viven difiere de la luz artificial en muchas características como puede ser la polarización o el cambio de su espectro con la profundidad. Por otra parte, el reflejo de la luz en las paredes del tanque aumenta el rozamiento de las paralarvas con estas superficies pudiendo generar lesiones en las mismas.

Objetivos

- Estudiar el efecto de la luz polarizada sobre la predación de las paralarvas de pulpo ante dos presas diferentes: *Artemia* y copépodos (*Tisbe* sp.).
- Analizar el crecimiento y supervivencia de las paralarvas de pulpo bajo un filtro de absorción que permite obtener un espectro de luz similar al de su medio natural.
- Estudiar el efecto de la luz reflejada en las paredes de los tanques sobre el crecimiento y supervivencia de las paralarvas.

Conclusiones

- La luz polarizada no influyó en la tasa de predación de las paralarvas.
- Se encontró un mayor consumo de *Artemia* respecto a copépodos, independientemente de la luz utilizada.
- El cambio en el espectro de luz no mostró diferencias en crecimiento y supervivencia, respecto al tratamiento control.
- El reflejo de la luz en las paredes del tanque no afectó al crecimiento y supervivencia de las paralarvas las cuales no mostraron ningún tipo de lesión externa.

Material y métodos

Efecto de la luz polarizada sobre la tasa de predación de las paralarvas



Efecto del filtro absorción y luz reflejada sobre crecimiento y supervivencia



Resultados

Efecto de la luz polarizada sobre la tasa de predación de las paralarvas.

Tabla 1. Número de presas consumidas por las paralarvas de *O. vulgaris* bajo distintas condiciones de luz: Luz Polarizada (P) y Luz No Polarizada (NP) y con distintos tipos de presas (*Artemia* y copépodo).

	Artemia		Copépodo		Two-way ANOVA		
	NP	P	NP	P	Luz	Presas	Interacción
Prueba 1	32,0 ± 2,0	35,3 ± 2,3	19,0 ± 3,0	20,7 ± 4,2	-	**	-
Prueba 2	27,3 ± 8,1	30,0 ± 2,0	11,3 ± 2,3	10,7 ± 2,3	-	**	-

Los asteriscos indican diferencias significativas encontradas en los parámetros estadísticos ($p < 0.05$).

Referencias: Carasco et al., 2006; Aquino, Ari, 2011; 1983-1985; Howard & Smith, 1983; NOAA TMA NMFS-FNRC-21; Rodrigues et al., 2010; Miguel Mar Rey, 05-213-216; Spintzik et al., 2009; J. Marquetti, 17040-632-608.

Agradecimientos: A la Fundación para a Ciencia e a Tecnología para Realizar el proyecto SEPAMARCA (PTDC/AMV/102346/2008) y la beca de A.S. Reyes (DPI/19/2020/2017) y de D. Reis (DPI/19/2020/1984/2015). A la beca FPI 2013 del Instituto Español de Oceanografía "Determinación de estrés y mortalidad biológica en las primeras fases de vida del pulpo común (*Octopus vulgaris*)" (BOC de 8 de noviembre de 2013). Al proyecto NUPRINUPLO financiado por ICMAR 2020 (Sistema de España).



Efecto del filtro absorción y luz reflejada sobre el crecimiento y supervivencia

Tabla 2. Efecto de distintas condiciones de iluminación (filtro absorción y luz no reflejada) en paralarvas de *O. vulgaris* sobre la longitud ventral del manto (LVM), longitud dorsal del manto (LDM), peso seco, supervivencia e índices específicos de crecimiento (IEC).

	Inicial		Control		Filtro de absorción		Luz no reflejada	
LVM (mm)	1,47 ± 0,06	b	2,63 ± 0,11	a	2,58 ± 0,07	ab	2,70 ± 0,07	a
IEC LVM (N/día)	0,74 ± 0,49	b	0,49 ± 0,13	a	0,50 ± 0,33	a	1,01 ± 0,28	a
LDM (mm)	1,91 ± 0,08	b	2,17 ± 0,13	a	2,10 ± 0,12	a	2,23 ± 0,12	a
IEC LDM (N/día)	0,89 ± 0,45	b	0,68 ± 0,41	a	0,68 ± 0,41	a	1,09 ± 0,38	a
Peso seco (mg)	0,22 ± 0,03	b	0,45 ± 0,08	a	0,41 ± 0,10	a	0,56 ± 0,15	a
IEC (N/día)	4,92 ± 1,42	b	4,39 ± 1,74	a	4,29 ± 1,74	a	6,44 ± 1,84	a
Supervivencia	66,6 ± 11,7	b	80,1 ± 9,0	a	80,1 ± 9,0	a	56,1 ± 11,6	b

Los asteriscos indican diferencias significativas encontradas en los parámetros estadísticos ($p < 0.05$).

Histología de las paralarvas



No se observaron lesiones en la piel de las paralarvas cultivadas con luz reflejada.

- Tinción azul de toluidino.
- Tinción hematoxilina-eosina.
- Tinción PAS.

Efecto de la densidad de cultivo sobre el crecimiento en juveniles de liseta (*Chelon labrosus*)

de las Heras¹ V., Martos-Sitcha^{1,2} J.A., Mata¹ J.A., Yúfera¹ M., Martínez-Rodríguez¹ G., Mancera² J.M.

¹Dpto. Biología Marina y Acuicultura, Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC), 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

²Dpto. Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz, España

veronica.delasheras@icman.csic.es

RESUMEN

En el cultivo de cualquier especie de interés acuícola es de suma importancia determinar las condiciones óptimas para conseguir un mejor crecimiento. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la influencia de la densidad de cultivo sobre el crecimiento de juveniles de liseta (*Chelon labrosus*, Risso 1827). Especímenes de liseta ($n = 450$, 101 días post-eclosión, peso medio $0,383 \pm 0,020$ g, y longitud media $3,270 \pm 0,051$ cm) fueron sometidos en triplicado a 3 densidades de cultivo: i) densidad baja (DB, $0,7 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$), ii) densidad media (DM, $2 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$) y iii) densidad alta (DA, $6,7 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$), realizándose muestreos a día 20, 45 y 75 del comienzo del experimento. Al final del experimento (día 75) se apreció un crecimiento significativamente superior, tanto en peso como en longitud, en los animales expuestos a DB respecto a aquellos mantenidos a DA. Por su parte, diversos índices de crecimiento y aprovechamiento del alimento no sufrieron cambios significativos entre los diferentes grupos experimentales a tiempo final, aunque el factor de conversión del alimento (FCR) presentó dos periodos bien diferenciados. Además, los resultados de cortisol plasmático mostraron una relación lineal inversa con la densidad de cultivo (DB > DM > DA). Los datos obtenidos en este experimento muestran cómo la edad de los especímenes es un factor a tener en cuenta frente a las densidades de cultivo analizadas.

PALABRAS CLAVE

Chelon labrosus, crecimiento, estrés, densidad de cultivo.

INTRODUCCIÓN

En la práctica acuícola, los especímenes cultivados están sometidos a diferentes tipos de estrés (por ejemplo: confinamiento, manejo o transporte) que pueden inducir la activación del sistema de estrés, así como diferentes respuestas fisiológicas ante la alteración producida. Este aspecto es crucial en la acuicultura, dado que cualquier activación del sistema de estrés aumentaría los requerimientos energéticos que el espécimen invierte en adaptarse a la nueva situación, sustrayéndolos de otros procesos fisiológicos (crecimiento, reproducción o respuesta del sistema inmune).

La densidad de cultivo constituye un importante factor a determinar en las instalaciones acuícolas, pues un exceso de la misma supondría una activación del sistema de estrés en los individuos (Barton and Iwama, 1991). Esta activación afectaría a las rutas energéticas relacionadas con el metabolismo de lípidos (Montero *et al.*, 1999), carbohidratos (Vijayan *et al.*, 1993; Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2005) y proteínas (Aragão *et al.*, 2008; Costas *et al.*, 2008) induciendo procesos catabólicos que repercutirían negativamente sobre el espécimen. Por otro lado, no llegar a la máxima densidad posible supondría una sub-utilización de las capacidades de la instalación acuícola, con las consiguientes pérdidas económicas que esto originaría.

La liseta (*Chelon labrosus*) es una especie de mugílido que aparece de manera natural en las zonas estuáricas y marismas de la región suratlántica de la Península Ibérica. Se ha demostrado que *C. labrosus* puede ser una especie cultivable (Boglione *et al.*, 1992; Ben Kemish *et al.*, 2006; 2012; Zouiten *et al.*, 2008), por lo que el control de los parámetros de cultivo, entre ellos la densidad de carga, se hacen imprescindibles para la optimización de su producción. Actualmente, la fabricación de piensos para acuicultura consume una alta cantidad de harinas y aceites de pescado originados en la pesca extractiva, lo que supone una alta presión sobre los ecosistemas marinos. Dadas las características omnívoras de la liseta (Drake y Arias, 1984), esta especie presenta un buen potencial para disminuir el alto consumo de estos componentes, así como para diversificar las actuales especies cultivadas.

El objetivo principal de este trabajo ha sido estudiar el crecimiento y procesos de estrés en juveniles de *C. labrosus* de 101 días de edad sometidos a diferentes densidades de cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

Huevos obtenidos de puestas naturales de un stock de reproductores mantenidos en el I.E.S. Els Alfacs (San Carlos de la Rápita, Tarragona) fueron transferidos a las instalaciones del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC, Puerto Real, Cádiz), donde fueron eclosionados, y las larvas cultivadas hasta su uso. Juveniles de liseta de 101 días post-eclosión fueron distribuidos por triplicado en tanques independientes para la formación de tres densidades de cultivo diferentes (Densidad Baja, DB: $0,70 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$; Densidad Media, DM: $2 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$; Densidad Alta, DA: $6,70 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$), que se mantuvieron durante 75 días (Figura 1). Se utilizó un ciclo de iluminación de 12 h luz: 12 h oscuridad, en condiciones controladas de temperatura ($18,6 \text{ }^\circ\text{C}$) y salinidad (30 ppt), y circulación de agua en flujo continuo.

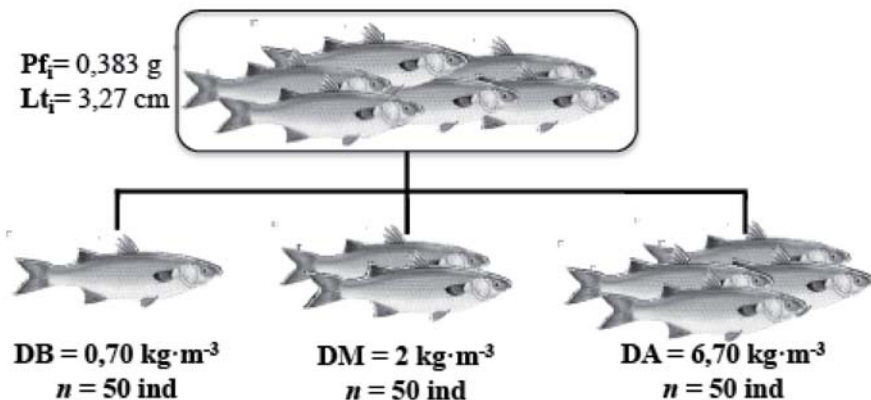


Figura 1.- Esquema del diseño experimental utilizado. Pf_i : Peso fresco inicial; Lt_i : longitud total inicial.

Los individuos se muestrearon los días 0, 20, 45 y 75 post-transferencia, obteniendo datos biométricos de peso y longitud total ($n = 10$ por triplicado). Así mismo, a día 75 se realizó un muestreo biológico para la obtención de plasma para la medición de cortisol, e hígado para el cálculo del índice hepatosomático (IHS). En aquellos casos donde fue necesario, se procedió a realizar el subsiguiente ajuste para mantener las densidades iniciales.

ANÁLISIS DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

Con los datos de peso fresco y longitud total obtenidos a día 75, se realizó el análisis de diferentes índices biométricos:

- Tasa específica de crecimiento (SGR, $\% \cdot \text{día}^{-1}$) = $[(\text{Ln}P_{f_f} - \text{Ln}P_{f_i}) / \text{días}] * 100$
- Tasa específica de alimentación (SFR, $\%$) = $[(\text{Alimento} / \text{Biomasa media}) / \text{días}] * 100$
- Ganancia en peso (WG, g) = $P_{f_f} - P_{f_i}$
- Factor de conversión del alimento (FCR) = $\text{Alimento aportado} / \text{Incremento biomasa}$
- Factor de condición (K) = $(P_f / L^3) * 100$

donde P_{f_i} = peso fresco inicial (g), P_{f_f} = peso fresco final (g), y L_t = longitud total (cm). Además, para el caso de FCR, se obtuvo el valor de cada grupo para los tres periodos estudiados.

El índice hepatosomático (IHS), se calculó según la siguiente ecuación:

$$\text{IHS} = (\text{Peso hígado} / \text{Peso fresco}) * 100$$

ANÁLISIS DE CORTISOL PLASMÁTICO

El análisis del cortisol plasmático se realizó a partir de la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) adaptada del método descrito por Rodríguez *et al.* (2000), previa extracción de la totalidad de todos los esteroides a partir de 5 μL de plasma.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La homogeneidad de las diferencias entre los tratamientos fue puesta a prueba por el test de Levene, y el análisis de la varianza mediante ANOVA de una vía seguido del Test de Tukey utilizando el software GraphPad PRISM (versión 5.0b). El nivel mínimo de significación fue de 95 % ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Los resultados relativos a peso húmedo (Fig. 2A) y longitud total (2B) de los ejemplares de *C. labrosus* muestran la existencia de un crecimiento similar durante los primeros 45 días del experimento en las tres densidades de cultivo testadas. Por su parte, a tiempo final (día 75 del experimento) se aprecia un crecimiento significativamente mayor de los especímenes de DB respecto a los de DA.

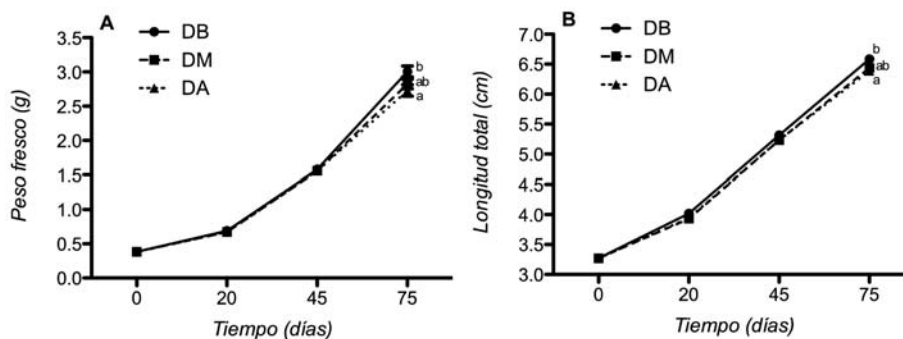


Figura 2.- Datos de peso fresco (A) y longitud total (B) en ejemplares de *C. labrosus* mantenidos bajo tres densidades de cultivo (DB: $0,70 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, DM: $2 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, DA: $6,70 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) tras 20, 45 y 75 días de experimentación ($n = 30$; medias \pm EEM). Diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas en distintos grupos experimentales para el mismo punto de muestreo (ANOVA simple, $P < 0,05$).

Los parámetros tasa específica de crecimiento (SGR), tasa específica de alimentación (SFR), factor de condición (K), eficiencia alimentaria (FER) e índice hepatosomático (IHS), no presentaron diferencias estadísticamente significativas a tiempo final entre ninguno de los tres grupos experimentales analizados. En cambio, los resultados de ganancia en peso (WG) mostraron la existencia de un crecimiento significativamente mayor en los ejemplares mantenidos bajo condiciones de DB (Tabla I).

Tabla I.- Valores obtenidos para la tasa específica de crecimiento (SGR), tasa específica de alimentación (SFR), ganancia en peso (WG), factor de condición (K), eficiencia alimentaria (FER) e índice hepatosomático (IHS) en ejemplares de *C. labrosus* mantenidos bajo tres densidades de cultivo (DB: 0,70 kg·m⁻³, DM: 2 kg·m⁻³, DA: 6,70 kg·m⁻³) tras 75 días de experimentación ($n = 30$; medias \pm EEM). Diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos experimentales (ANOVA simple, $P < 0,05$).

PARÁMETRO	DB	DM	DA
Tasa específica de crecimiento (SGR, % día)	2,762 \pm 0,062	2,686 \pm 0,060	2,628 \pm 0,071
Tasa específica de alimentación (SFR, %)	6,320 \pm 0,391	6,608 \pm 0,270	6,845 \pm 0,239
Ganancia en peso (WG, g)	2,619 \pm 0,079 ^a	2,450 \pm 0,068 ^{ab}	2,345 \pm 0,084 ^b
Factor de conversión del alimento (FCR)	4,086 \pm 0,552	4,465 \pm 0,393	4,833 \pm 0,396
Factor de condición (K)	1,055 \pm 0,041	1,058 \pm 0,006	1,049 \pm 0,034
Índice hepatosomático (IHS)	1,868 \pm 0,054	1,787 \pm 0,167	1,810 \pm 0,086

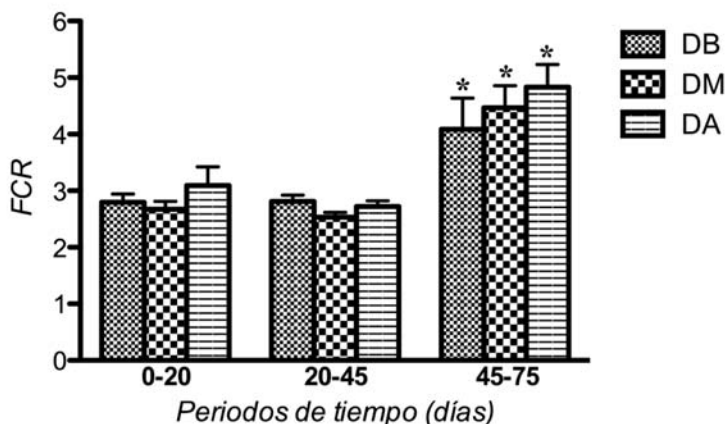


Figura 3.- Factor de conversión del alimento (FCR) en ejemplares de *C. labrosus* mantenidos bajo tres densidades de cultivo (DB: 0,70 kg·m⁻³, DM: 2 kg·m⁻³, DA: 6,70 kg·m⁻³) tras 75 días de experimentación ($n = 30$; medias \pm EEM). *diferencias estadísticamente significativas para un mismo grupo experimental entre diferentes periodos de tiempo (ANOVA simple, $P < 0,05$).

Los resultados de cortisol plasmático (Fig. 4) mostraron la existencia de diferencias estadísticamente significativas después de 75 días de experimentación, con los mayores niveles circulantes en el grupo de DB y los menores niveles en el grupo de DA.

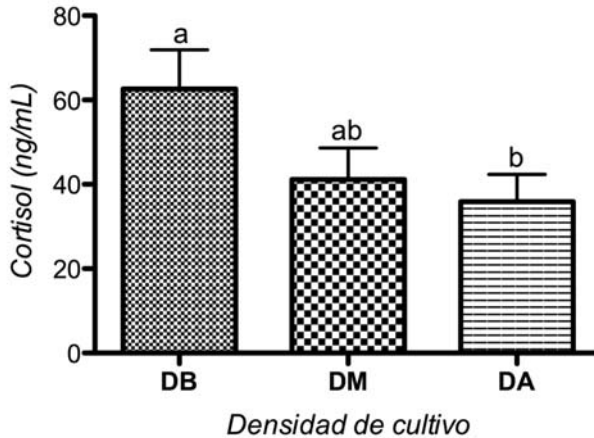


Figura 4.- Cortisol plasmático medido en ejemplares de *C. labrosus* mantenidos bajo tres densidades de cultivo (DB: 0,70 kg·m⁻³, DM: 2 kg·m⁻³, DA: 6,70 kg·m⁻³) tras 75 días de experimentación ($n = 30$; medias \pm EEM). Diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos experimentales (ANOVA simple, $P < 0,05$).

DISCUSIÓN

El efecto de la densidad de cultivo sobre el crecimiento ha sido previamente estudiado en diversas especies de teleósteos, mostrándose un efecto negativo de altas densidades en el crecimiento del espécimen (Pickering, 1993; Pankhurst and Van der Kraak, 1997). Nuestros datos confirman, tanto en longitud como en peso (ya sea a tiempo final o como ganancia en peso, WG), la existencia de un mayor crecimiento en aquellos ejemplares mantenidos en menores densidades de cultivo. Así, los resultados indican la existencia de un efecto negativo de la densidad de cultivo (por lo menos con la DA usada en este experimento: 6,7 kg·m⁻³) en juveniles de *C. labrosus* con 146 días de edad. Además, los resultados obtenidos también indican la posibilidad de usar una densidad de cultivo de hasta 6,7 kg·m⁻³ en juveniles comprendidos entre los 101 y 146 días de edad sin efectos negativos sobre el crecimiento.

Diversos estudios han mostrado que la mejor tasa de conversión del alimento se obtiene en ejemplares con una tasa de alimentación baja frente a ejemplares alimentados con tasas superiores, como consecuencia de que bajo condiciones de tasas bajas de alimentación los peces tienden a optimizar sus procesos digestivos extrayendo la mayor cantidad de nutrientes y de una manera más eficiente (Zoccarato *et al.*, 1994; Van Ham *et al.*, 2003; Eroldogan *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos de los índices analizados aportan información sobre el comportamiento en cuanto a crecimiento y aprovechamiento del alimento para cada uno de los grupos experimentales. Así, aunque no existen diferencias entre las densidades de cultivo testadas, existen tendencias al final del experimento que marcan un mayor rendimiento del alimento en los grupos mantenidos en DB, como es el caso del SGR, que muestra un incremento lineal inverso de la ganancia en peso diario con la densidad de cultivo (DB>DM>DA), o el SFR, que da indicios sobre las condiciones de alimentación que favorecen un crecimiento máximo y su interacción con la densidad de cultivo (DA>DM>DB). En cuanto al factor de condición (K), la ausencia de diferencias muestra como el crecimiento de los ejemplares se realiza de forma equitativa en cuanto a peso y longitud. De igual forma, no existen diferencias en el IHS, indicando que la acumulación y/o requerimientos energéticos a nivel hepático se realizan de la misma forma, independientemente de las densidades de carga utilizadas así como del crecimiento de los ejemplares mantenidos en ellas.

En cambio, si nos centramos en el factor de conversión (FCR), se puede apreciar como dentro de cada uno de los periodos experimentales no existen diferencias marcadas entre cada una de las densidades de cultivo utilizadas, aunque sí se observa cómo entre los periodos de 0 a 45 días de experimentación este factor es significativamente menor al encontrado en el periodo de 45 a 75 días, mostrando por tanto un mayor incremento de biomasa generada respecto a la ración de alimento proporcionada.

El cortisol es el principal corticosteroide presente en teleósteos, y sus concentraciones plasmáticas pueden incrementarse fuertemente durante situaciones de estrés (Mommsen *et al.*, 1999; Barton, 2002). Nuestros resultados muestran que los ejemplares mantenidos a DB poseen los mayores niveles de esta hormona, y por consiguiente podríamos esperar los peores crecimientos. Sin embargo, la situación obtenida es la inversa, sugiriéndose un papel importante de esta hormona en el crecimiento de la especie dentro de los estadios/edades usados en este estudio. Futuros estudios se hacen necesarios para poder comprobar esta hipótesis.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos, la densidad de cultivo es un factor importante a tener en cuenta en el cultivo de juveniles de *C. labrosus*, sugiriéndose el empleo de una densidad de cultivo hasta $6,7 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ durante las primeras fases de desarrollo (a menos entre 101 ($0,3836 \pm 0,020 \text{ g}$) y 146 días post eclosión ($1,565 \pm 0,026 \text{ g}$). A partir de 146 días post-eclosión ($1,565 \pm 0,026 \text{ g}$) haría falta un reajuste de esta densidad de cultivo hacia valores inferiores que evitase los efectos negativos sobre los parámetros de crecimiento. Esto permitiría, de acuerdo a la talla/edades de los especímenes, un mayor rendimiento en el cultivo, así como una optimización de las instalaciones.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado gracias a los proyectos “Optimización del proceso de maduración y desove del mugilido (*Chelon labrosus*)”, co-financiado por el Ministerio de Educación (España) y el Fondo Social Europeo (BOE 258 del 26 de octubre de 2011) otorgado a GM-R, y AGL2010-14876 otorgado por el MICINN (España) a JMM. V. de las H. está financiada por un contrato temporal asignado al primer proyecto citado, y JAM-S por una beca predoctoral (FPU, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación (España). Los autores agradecen al IES Els Alfacs, a través de Jordi Quintano, la cesión de las puestas sin las cuales no hubiera sido posible esta experimentación.

REFERENCIAS

- Aragão C., Corte-Real J., Costas B., Dinis M.T., Conceição L.E.C. 2008. Stress response and changes in amino acid requirements in Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). *Amino Acids* 34: 143–148.
- Barton B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology* 42(3): 517–525.
- Barton B.A., Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish*

Diseases 1: 3–26.

- Ben Khemis I., Zouiten D., Besbes R., Kamoun F. 2006. Larval rearing and weaning of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) in mesocosm with semiextensive technology. *Aquaculture* 259: 190–201.
- Ben Khemis I., Gisbert E., Alcaraz C., Zouiten D., Besbes R., Zouiten A., Masmoudi A.S., Cahu C. 2012. Allometric growth patterns and development in larvae and juveniles of thick-lipped grey mullet *Chelon labrosus* reared in mesocosm conditions. *Aquaculture Res.* DOI: 10.1111/j.1365-2109.2012.03192.x
- Boglione C., Bertolini B., Russiello M., Cataudella S. 1992. Embryonic and larval development of the thick-lipped mullet (*Chelon labrosus*) under controlled reproduction conditions. *Aquaculture* 101: 349–359.
- Costas B., Aragão C., Mancera J.M., Dinis M.T., Conceição L.E.C. 2008. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. *Aquaculture Res.* 39(1): 1–9.
- Drake P., Arias A.M. 1984. Biología de los Mugílidos (Osteichthyes, Mugilidae) en los esteros de las Salinas de San Fernando (Cádiz). III. Hábitos alimentarios y su relación con la morfometría del aparato digestivo. *Investigaciones Pesqueras* 48 (2): 337-367.
- Eroldogan O.T., Kumlu M., Aktas M. 2004. Optimum feeding rates for European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. reared in seawater and freshwater. *Aquaculture* 231: 501-515.
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Review in Fish Biology and Fisheries* 9: 211–268.
- Montero D., Izquierdo M.S., Tort L., Robaina L., Vergara J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20: 53–60.
- Pankhurst N.W., Van der Kraak G. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. In *Fish stress and health in aquaculture*. (Eds. G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter and C.B. Schreck). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 35-94.
- Pickering A.D. 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture* 111: 51-63.
- Rodríguez L., Begtashi I., Zanuy S., Carrillo M. 2000. Development and validation of an enzyme immunoassay for testosterone: Effects of photoperiod on plasma testosterone levels and gonadal development in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) at puberty. *Fish Physiol. Biochem.* 23: 141-150.
- Sangiao-Alvarellos S., Guzmán J.M., Laiz-Carrión R., Míguez J.M., Martín del Río M.P., Mancera J.M., Soengas J.L. 2005. Interactive effects of high stocking density and

food deprivation on carbohydrate metabolism in several tissues of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *J. Exp. Zool.* 303A: 761–775.

- Van Ham E.H., Berntssen M.H.G., Imstrand A.K., Parpoura A.C., Wenderlaar Bongar S.E., Stefansson S.O. 2003. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrition retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 217: 547– 558.
- Vijayan M.M., Foster G.D., Moon T.W. 1993. Effects of cortisol on hepatic carbohydrate metabolism and responsiveness to hormones in the sea raven, *Hemirhamphus intermedius*. *Fish Physiol. Biochem.* 12: 327–335.
- Zoccarato I., Benatti G., Boccignone M.L., Conti A., Napolitano R., Palmegiano G.B. 1994. Differences in performance, flesh composition and water output quality in relation to density and feeding levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)", farming. *Aquaculture Res.* 25: 639–645.
- Zouiten D., Ben Khemis I., Besbes R., Cahu C. 2008. Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in "mesocosms". *Aquaculture* 279: 166-172.

Efecto de la densidad de cultivo sobre el crecimiento en juveniles de liseta (*Chelon labrosus*)

de las Heras V.¹

Martos-Silcha J.A.^{1,2}

Yata J.A.¹

Yúfera M.¹

Martínez-Rodríguez G¹

Mancera J.M.²

¹ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC) Campus Universitario Río San Pedro s/n. Puerto Real 11510, Cádiz.

² Dpto. Biología Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Univ. Cádiz. Puerto Real 11510, Cádiz.

E-mail: yunika.dalabanda@icman.csic.es



Unión Europea
Fondo Social Europeo
El FSE invierte en tu futuro

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE EDUCACIÓN

CSIC

Firma

UCA
cei mar

Unión de Cádiz

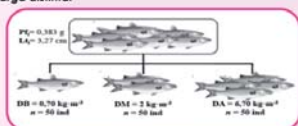
INTRODUCCIÓN

Los especímenes cultivados están sometidos a diferentes factores (confinamiento, manejo o transporte) que pueden inducir la activación del sistema de estrés, así como diferentes respuestas fisiológicas. La densidad de cultivo constituye un importante factor, ya que su activación afectaría a las rutas energéticas relacionadas con el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas. La liseta es una especie omnívora que presenta un buen potencial para disminuir la dependencia de las harinas de pescado para su alimentación.

El objetivo principal de este trabajo ha sido estudiar el crecimiento y procesos de estrés en juveniles de *C. labrosus* de 101 días de edad sometidos a diferentes densidades de cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

1) Distribución de los juveniles en tres densidades de carga distinta.



2) Muestreo biométricos los días 0, 20, 45 y 75 de experimento. Extracción de sangre (día 75) y análisis de cortisol plasmático.



3) Análisis de parámetros de crecimiento.

SGR: tasa específica de crecimiento

FCR: factor conversión de alimento

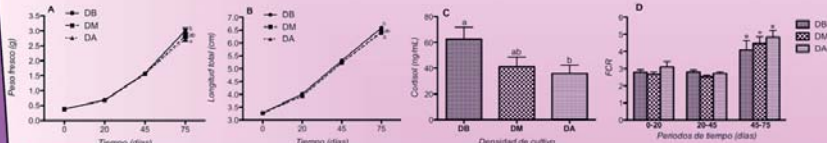
SFR: tasa específica de alimentación

K: factor de condición

WG: ganancia en peso

IHS: índice hepatosomático

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Crecimiento en peso fresco (A), longitud total (B), cortisol plasmático (C) y FCR en ejemplares de *C. labrosus* mantenidos bajo tres densidades de cultivo analizadas tras 20, 45 y/o 75 días de experimentación ($n = 30$; medias \pm EEM). Diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas en distintos grupos experimentales para el mismo punto de muestreo, *diferencias estadísticamente significativas para un mismo grupo experimental entre diferentes periodos de tiempo (ANOVA simple, $P < 0.05$).

PARÁMETRO	DB	DM	DA
Tasa específica de crecimiento (SGR, % día)	2.762 \pm 0.042	2.484 \pm 0.040	2.628 \pm 0.071
Tasa específica de alimentación (SFR, %)	6.320 \pm 0.391	6.408 \pm 0.270	6.845 \pm 0.239
Ganancia en peso (WG, g)	2.619 \pm 0.079*	2.450 \pm 0.068 ^{ab}	2.345 \pm 0.084 ^b
Factor de conversión del alimento (FCR)	4.086 \pm 0.552	4.465 \pm 0.393	4.833 \pm 0.396
Factor de condición (K)	1.055 \pm 0.041	1.058 \pm 0.006	1.049 \pm 0.034
Índice hepatosomático (IHS)	1.868 \pm 0.054	1.787 \pm 0.167	1.810 \pm 0.086

Valores obtenidos para parámetros de ingestión y crecimiento en ejemplares de *C. labrosus* mantenidos bajo tres densidades de cultivo (DB: 0.70 kg m⁻³; DM: 2 kg m⁻³; DA: 6.70 kg m⁻³) tras 75 días de experimentación ($n = 30$; medias \pm EEM). Diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos experimentales (ANOVA simple, $P < 0.05$).

A la vista de los resultados, la densidad de carga es un factor importante en el cultivo de juveniles de *C. labrosus*. El empleo de una densidad de cultivo hasta 6.7 kg m⁻³ durante las primeras fases de desarrollo, al menos entre 101 (0.3836 \pm 0.020 g) y 146 días post-eclosión (1.565 \pm 0.026 g), sería posible para el cultivo de la especie. A partir de 146 días post-eclosión (1.565 \pm 0.026 g) haría falta un reajuste de las densidades de cultivo superiores que evitasen los efectos negativos sobre crecimiento. Esto permitiría, de acuerdo a los estados/edades de los especímenes, un mayor rendimiento en el cultivo, así como una optimización de las instalaciones.

BIBLIOGRAFÍA

Rodríguez, L., Beglashi, I., Zanuy, S. y Carrillo, M. 2000. Development and validation of an enzyme immunoassay for testosterone: Effects of photoperiod on plasma testosterone levels and gonadal development in male sea bass (*Dicentrarchus labros*, L.) at puberty. *Fish Physiol. Biochem.*, 23, 141-150.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado gracias al proyecto "Optimización del proceso de maduración y desove del mugilido (*Chelon labrosus*)", co-financiado por el Ministerio de Educación y el Fondo Social Europeo (BOE 258 del 26 de octubre de 2011). Y de las H está financiada por un contrato temporal asignado al citado proyecto, y JAM-S por una beca predoctoral (FPU, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación (España). Los autores agradecen al IES El Alifac, a través de Jorji Quintano, la cesión de los puestos sin los cuales no hubiera sido posible esta experimentación.

Efecto del amoníaco y la dureza del agua en la expresión de prolactina, hormona del crecimiento, somatolactina y niveles plasmáticos de cortisol en el pez de agua dulce *Rhamdia quelen*

Martos-Sittha^{1,2} J.A., Martínez-Rodríguez¹ G., Mancera² J.M., Toni³ C., Prati⁴ R.L., Garcia⁴ L.O., Salbego³ J., Baldisserotto³ B.

¹Departamento de Biología Marina y Acuicultura, Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, 11510 Puerto Real (Cádiz).

²Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz).

³Departamento de Fisiología e Farmacología, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS – Brasil.

⁴Instituto de Oceanografía, Estação Marinha de Aquacultura, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande – RS – Brasil

bbaldisserotto@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto del amoníaco y/o dureza del agua sobre la expresión de hormonas adenohipofisarias [prolactina (PRL), hormona del crecimiento (GH) y somatolactina (SL)], así como sobre los niveles de cortisol plasmático en bagres (*Rhamdia quelen*). Ejemplares de bagres ($n = 130$, 60-120 g) se distribuyeron en seis tratamientos por triplicado, combinando tres niveles de amoníaco ($0,010 \pm 0,008$; $0,18 \pm 0,02$ y $0,500 \pm 0,007$ mg·L⁻¹) mediante la adición de cloruro amónico (NH₄Cl) y dos niveles de dureza del agua (25 y 120 mg·L⁻¹ de CaCO₃). Los especímenes se muestrearon los días 0, 1 y 5 post-transferencia. El plasma se utilizó para el estudio de los niveles plasmáticos de cortisol mediante la técnica ELISA. Los cerebros completos fueron recolectados para la medición de la expresión de PRL, GH y SL mediante técnicas de PCR a tiempo real (QPCR). La expresión

de GH disminuyó respecto al grupo control 5 días después de la exposición a $0,18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NH_3 en los peces mantenidos a $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 , mientras que los niveles de expresión de PRL aumentaron después de 1 día de exposición bajo las mismas condiciones. Por su parte, la expresión de SL disminuyó en los ejemplares expuestos durante 5 días a $0,18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NH_3 y mantenidos en $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 en comparación con los valores obtenidos para el mismo tratamiento en los días anteriores. La exposición a ambos niveles de NH_3 incrementó los niveles plasmáticos de cortisol en los peces mantenidos a $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 durante el primer día del experimento, mientras que en los mantenidos a $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 estos niveles solamente aumentaron en los ejemplares expuestos a la concentración más alta de amoníaco. Además, después de 5 días de exposición, los ejemplares mantenidos a $0,18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NH_3 y $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 mostraron niveles superiores de cortisol plasmático respecto a los obtenidos en el grupo control y en los expuestos al mismo nivel de NH_3 y $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 . Los resultados muestran como, en general, el aumento de la dureza del agua mejora los parámetros evaluados en los ejemplares expuestos a diferentes dosis de amoníaco.

PALABRAS CLAVE

Calidad de agua, estrés, hormonas adenohipofisarias, *Rhamdia quelen*.

INTRODUCCIÓN

El amoníaco es el principal compuesto de nitrógeno excretado por los peces, principalmente a través de las branquias. Su producción depende principalmente de la ingesta de proteínas y la eficiencia metabólica, que es específica de la especie y puede estar afectada por el aumento de los niveles de amoníaco en el agua (Dosdat *et al.*, 2003). Este compuesto tóxico afecta a los sistemas de producción intensiva, donde altos niveles pueden comprometer el buen desarrollo de los peces (Wajsbrodt *et al.*, 1993; Le Ruyet *et al.*, 1997; Miron *et al.*, 2011; Sinha *et al.*, 2012a; Ferreira *et al.*, en prensa). El impacto humano, como consecuencia del uso generalizado de fertilizantes y otros productos industriales, así como de desechos orgánicos producidos durante las actividades de la agricultura, también ha contribuido al incremento de amoníaco en las aguas naturales (Randall and Tsui, 2002). Este compuesto puede ser encontrado en el agua en las formas de amonio ionizado (NH_4^+) y no ionizado (NH_3). La forma NH_3 es la más tóxica (Miron *et al.*, 2008), y puede causar alteraciones tanto en la osmolalidad y/o el equilibrio de electrolitos (McDonald and Milligan, 1997, Becker *et al.*, 2009) como en la liberación de

hormonas (El-Shebly and Gad, 2011; Sinha *et al.*, 2012b, c).

Los cationes divalentes presuntamente actúan en el proceso branquial de excreción de amoníaco, observándose que el Ca^{2+} tiene un efecto más potente que el Mg^{2+} en la mejora de la excreción de este compuesto (Iwama *et al.*, 1997). De hecho, se ha observado que la elevación de los niveles de Ca^{2+} en el agua reduce la toxicidad de NH_3 a corto plazo en el bagre de canal, *Ictalurus punctatus* (Tomasso *et al.*, 1980) y en el híbrido de hembras *Morone chrysops* × machos *Morone saxatilis* (Weirich *et al.*, 1993).

El bagre negro (*Rhamdia quelen*) es un buen modelo biológico para analizar el efecto del amoníaco y la dureza del agua sobre diversos procesos fisiológicos en teleósteos, debido a que se han realizado numerosos estudios del efecto de estos factores en la supervivencia y crecimiento tanto en estadios larvarios como en juveniles de esta especie (Townsend and Baldisserotto, 2001; Silva *et al.*, 2003, 2005; Townsend *et al.*, 2003; Miron *et al.*, 2008, 2011; Copatti *et al.*, 2011a, b). Además, un aumento en la dureza del agua disminuye los efectos nocivos del amoníaco sobre el crecimiento del bagre negro en aguas blandas (Ferreira *et al.*, en prensa). Sin embargo, no existen estudios sobre el comportamiento del sistema endocrino en peces expuestos a diferentes concentraciones de amoníaco y dureza del agua. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la interacción entre el amoníaco y la dureza del agua en la expresión de hormonas adenohipofisarias [prolactina (PRL), hormona del crecimiento (GH) y somatolactina (SL)] y en los niveles de cortisol plasmático, que presentan importantes funciones en diversos procesos fisiológicos (osmorregulación, estrés, crecimiento, metabolismo del calcio, etc).

MATERIALES Y MÉTODOS

Juveniles de bagre ($n = 130$, 60-120 g) fueron obtenidos a partir de una producción propia de la Universidade Federal de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil), trasladados al Laboratorio de Fisiología de Peces en la Universidade Federal de Santa Maria y mantenidos en tanques de 250 L con aireación continua. Después de 15 días de aclimatación, los juveniles fueron transferidos a 18 tanques de polipropileno de 40 L ($n = 10$ por tanque) en los que los animales se distribuyeron en seis tratamientos por triplicado (una combinación de tres concentraciones de amoníaco por dos niveles de dureza del agua). Las concentraciones de amoníaco en el agua fueron de $0,010 \pm 0,008$; $0,180 \pm 0,020$ y $0,500 \pm 0,007$ mg/L, las cuales fueron logradas mediante la adición de NH_4Cl . La dureza del agua se mantuvo constante a 25 y 120 mg de CaCO_3/L en todos los niveles de amoníaco. Los juveniles fueron alimentados mediante pienso comercial una vez al día en una proporción del 5 % de su biomasa. Los restos de alimentos, así como otros residuos y las heces, fueron retirados diariamente, además de realizar renovaciones

diarias de un 20 % del volumen de cada tanque con agua previamente ajustada a los niveles de amoníaco y dureza adecuados. El pH del agua fue supervisado tres veces al día con un medidor de pH Quimis (modelo 400.A). La dureza del agua fue medida cada tres días mediante titulación con EDTA (Eaton *et al.*, 2005). Los niveles totales de amoníaco fueron verificados una vez por semana según Eaton *et al.* (2005) y los niveles de amonio no ionizado fueron calculados de acuerdo a lo descrito por Colt (2002). Los niveles de oxígeno disuelto y temperatura fueron medidos diariamente con oxímetro YSI (modelo Y5512 Yellow Springs, EE.UU.), y los de alcalinidad total y nitritos semanalmente según el método descrito por Boyd (1998).

Los especímenes fueron anestesiados con 50 mg/L de eugenol durante 3 min, pesados, medidos y muestreados a los 0, 1 y 5 días ($n = 10$ ejemplares por punto de muestreo y condición experimental). La sangre, obtenida por punción caudal, fue centrifugada para la separación del plasma, el cual fue usado para la extracción de esteroides plasmáticos y la posterior medición de cortisol de acuerdo con Rodríguez *et al.* (2000). Los cerebros completos fueron recogidos y almacenados en RNAlater a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento. Posteriormente, se realizó la extracción de ARNtotal mediante la utilización de kits comerciales (NucleosSpin[®] RNA II kit, Macherey-Nagel), su reverso-transcripción hasta ADN complementario (ADNc) (qScript[™] cDNA synthesis kit, Quanta BioSciences) y la medición de la expresión de PRL, GH y SL mediante PCR semicuantitativa a tiempo real (QPCR) (Livak y Schmittgen, 2001).

La metodología de este experimento fue aprobada por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Universidade Federal de Santa Maria. La homogeneidad de las diferencias entre los tratamientos fue puesta a prueba por el test de Levene. Los datos no presentaron varianzas homogéneas y las comparaciones fueron hechas por la extensión Scheirer-Ray-Hare del test de Kruskal-Wallis seguida del test de Nemenyi, utilizando el software Statistica (versión 7). El nivel mínimo de significación fue del 95 % ($P < 0,05$).

RESULTADOS

La dureza del agua no modificó la mortalidad producida por la exposición a amoníaco en los ejemplares de bagre negro utilizados en este experimento, en donde la exposición a 0,50 mg/L de NH_3 en ambas durezas causó una mortalidad del 100 % antes de los 5 días de experimentación. Los bagres expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 tuvieron una mortalidad de $63,9 \pm 9,4\%$ en 25 mg CaCO_3/L y $57,6 \pm 9,5\%$ en 120 mg CaCO_3/L . Además, aproximadamente el 50 % de las muestras de cerebro de los peces que sobrevivieron a la exposición a 0,18 mg/L de NH_3 en 25 mg de CaCO_3/L durante 5 días presentaron un alto nivel de degradación de su ARN, presumiblemente indicando la existencia de daños a nivel del sistema nervioso.

La expresión de PRL aumentó significativamente en los peces mantenidos en 25 mg CaCO_3/L y expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 durante un día. Sin embargo, este aumento no se observó en los peces expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 y mantenidos en 120 mg CaCO_3/L . Después de cinco días, no hubo diferencias significativas en la expresión de PRL en los peces expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 en comparación con los controles (Fig. 1A). Por su parte, la expresión de GH disminuyó significativamente comparada con el grupo control tras cinco días de exposición a 0,18 mg/L de NH_3 en los peces mantenidos a 25 mg CaCO_3/L (Fig. 1B). En cuanto a la SL, la expresión de esta hormona solamente disminuyó en los peces expuestos durante cinco días a 0,18 mg/L de NH_3 y mantenidos en 120 mg CaCO_3/L , en comparación con la expresión medida en los animales expuestos al mismo tratamiento en días anteriores (Fig. 1C).

La exposición a ambos niveles de NH_3 aumentó significativamente los valores plasmáticos de cortisol en los peces mantenidos a 25 mg CaCO_3/L a un día post-transferencia. Sin embargo, en los ejemplares sometidos a 120 mg CaCO_3/L , dichos niveles solamente aumentaron significativamente en el grupo expuesto a 0,50 mg/L de NH_3 . Tras cinco días de exposición, los peces mantenidos a 0,18 mg/L de NH_3 y 25 mg CaCO_3/L incrementaron significativamente sus valores de cortisol, respecto a los del grupo control y a los expuestos al mismo nivel de NH_3 y 120 mg CaCO_3/L (Fig. 1D).

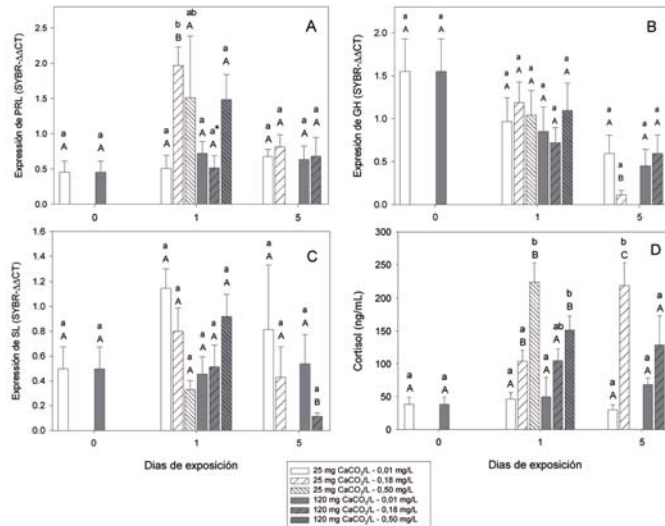


Figura 1.- Niveles de expresión de PRL (A), GH (B) y SL (C), y valores de cortisol plasmático (D) en bagres negros expuestos a diferentes niveles de amoníaco y durezas del agua. Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos en el mismo día de exposición. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre los días de exposición para el mismo tratamiento. * Significativamente diferente para el mismo nivel de NH_3 en 25 mg CaCO_3/L .

DISCUSIÓN

La concentración letal (a 96 h) para NH_3 en bagres negros mantenidos a pH 7,5 ha sido establecida con anterioridad entre un rango de 1,2 y 1,45 mg/L (Miron *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, en prensa). Sin embargo, nuestros resultados muestran una mortalidad total en bagres expuestos a 0,5 mg/L de NH_3 durante 5 días en ambas durezas testadas, no existiendo por tanto diferencias en la mortalidad de los ejemplares expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 en las dos durezas de agua estudiadas. Esto está de acuerdo con los resultados de experimentos previos realizados sobre la misma especie, que mostraron como el aumento de la dureza del agua no produjo cambios en la concentración letal de NH_3 (Ferreira *et al.*, en prensa). Además, los especímenes de mayor peso (entre 60 y 120 g) parecen ser más sensibles al NH_3 que los especímenes de menor peso (entre 1,85 y 11,0 g), lo que sugiere cambios en la resistencia de los especímenes a la toxicidad del NH_3 asociados a la edad y/o tamaño.

La disminución en la expresión de GH después de cinco días y el aumento del cortisol plasmático en bagres negros expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 y 25 mg CaCO_3 /L está de acuerdo con la reducción de la expresión de receptores de GH (pero no la expresión de GH) y del factor de crecimiento tipo insulina I (IGF-I) entre 10 y 21 días de exposición, y el aumento de los niveles plasmáticos y expresión de receptores de cortisol después de cuatro días en *Carassius auratus* expuestos a 1,0 mg/L NH_3 (Sinha *et al.*, 2012b, c).

En la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) los niveles plasmáticos de GH disminuyeron proporcionalmente a la concentración de amoníaco presente en el agua (en el rango de 0,01 a 0,6 mg/L) (El-Shebly and Gad, 2011). Sin embargo, mientras que nuestros resultados muestran cómo la exposición a 0,18 mg/L de NH_3 y 25 mg CaCO_3 /L aumentó la expresión de PRL en bagres negros después de un día de experimento, la expresión de los receptores de prolactina disminuyó a los cuatro días de exposición a 1,0 mg/L de NH_3 en *C. auratus* (Sinha *et al.*, 2012b). Por su parte, la expresión de SL disminuyó en los bagres negros expuestos durante cinco días a 0,18 mg/L de NH_3 y en 120 mg CaCO_3 /l, mientras que en *C. auratus* la expresión de esta hormona no fue alterada por la exposición a 1,0 mg/L de NH_3 (Sinha *et al.*, 2012c).

El aumento de la dureza del agua desde 25 hasta 120 mg CaCO_3 /L no cambió la mortalidad en los grupos testados, pero sin embargo tuvo un efecto protector en especímenes expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 , dado que en los ejemplares mantenidos en dureza más alta los niveles plasmáticos de cortisol aumentarían en menor medida y la expresión de GH y PRL sufrieron una menor alteración. Igualmente, no se produjo ninguna degradación en el ARN de las hipófisis recolectadas en este grupo experimental, lo que sugiere la ausencia de efectos neurotóxicos del NH_3 . Estos resultados están de acuerdo con el hecho de que una

mayor dureza mejora el crecimiento de los bagres negros expuestos a niveles subletales de amoníaco (Ferreira *et al.*, en prensa).

CONCLUSIONES

Niveles de 0,50 mg/L de NH_3 son letales a corto plazo para bagres negros, independientemente de la dureza del agua. Por su parte, esta misma concentración de NH_3 también puede causar mortalidad a corto plazo y produce una activación del eje de estrés tal y como indican los altos niveles de cortisol plasmático y de expresión de PRL, así como la reducción en la expresión de GH. Para bagres negros expuestos a 0,18 mg/L de NH_3 el aumento en la dureza del agua tiene un efecto protector, mostrada por la disminución en los cambios hormonales.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el Proyecto 473718/2011-1 (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) otorgado a BB, y por el Proyecto AGL2010-14876 (Ministerio de Ciencia y Educación, España) otorgado a JMM. JAM-S está financiado por el Ministerio de Educación (España) a través del programa “Formación de Profesorado Universitario (FPU)” (Ref: AP2008-01194).

REFERENCIAS

- Becker A.G., Garcia L.D., Kochhann D., Goncalves J.F., Loro V.L., Baldisserotto B. 2009. Dissolved oxygen and ammonia levels in water that affect plasma ionic content and gallbladder bile in silver catfish. *Ciência Rural* 39: 1768-1773.
- Boyd C.E. 1998. Water quality management for pond fish culture: research and development. *International Center Aquaculture and Aquatic Environments* 43: 1-37.
- Colt J. 2002. List of spreadsheets prepared as a complement (Disponible en <http://www.fisheries.org/afs/hatchery.html>). En: Wedemeyer G.A. (ed) Fish hatchery management, 2nd edn. American Fisheries Society Publications.
- Copatti C.E., Garcia L.O., Cunha M.A., Kochhann D., Baldisserotto B. 2011a. Interaction

- of water hardness and pH on growth of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles. *J. World Aquaculture Society* 42: 580-585.
- Copatti C.E., Garcia L.O., Kochhann D., Cunha M.A., Becker A.G., Baldisserotto B. 2011b. Low water hardness and pH affect growth and survival of silver catfish juveniles. *Ciência Rural* 41: 1482-1487.
- Dosdat A., Le Ruyet J., Covès D., Dutto G., Gasset E., Le Roux A., Lemarié G. 2003. Effect of chronic exposure to ammonia on growth, food utilization and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Research* 16, 509-520.
- Eaton A.D., Clesceri L.S., Rice E.W., Greenberg A.E. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21^a edn. American Public Health Association, EE.UU.
- El-Shebly A.A., Gad H.A.M. 2011. Effect of chronic ammonia exposure on growth performance, serum growth hormone (GH) levels and gill histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Microbiol. Biotechnol. Res.* 1: 183-197.
- Ferreira F.W., Cunha R.B., Baldisserotto B. En prensa. The survival and growth of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen*, exposed to different NH₃ and hardness levels. *Journal of the World Aquaculture Society*.
- Iwama G.K., McGeer J.C., Wright P.A., Wilkie M.P., Wood C.M. 1997. Divalent cations enhance ammonia excretion in Lahontan cutthroat trout in highly alkaline water. *J. Fish Biol.* 50: 1061-1073.
- Le Ruyet J., Galland R., Le Roux A., Chartois H. 1997. Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 154: 155-171.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method. *Methods* 25(4): 402-408.
- McDonald D.G., Milligan L. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G.K. et al. Fish stress and health in aquaculture. Cambridge: University Press. p. 119-144.
- Miron D.S., Moraes B., Becker A., Crestani M., Spanevello R., Loro V.L., Baldisserotto B. 2008. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). *Aquaculture* 277: 192-196.
- Miron D.D., Becker A.G., Loro V.L., Baldisserotto B. 2011. Waterborne ammonia and silver catfish, *Rhamdia quelen*: survival and growth. *Ciência Rural* 41: 349-353.
- Randall D.J., Tsui T.K.N. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin* 45: 165-179.
- Rodríguez L., Begtashi I., Zanuy S., Carrillo M. 2000. Development and validation of an enzyme immunoassay for testosterone: Effects of photoperiod on plasma testosterone

- levels and gonadal development in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) at puberty. *Fish Physiol. Biochem.* 23: 141-150.
- Silva L.V.F., Golombieski J.I., Baldisserotto B. 2003. Incubation of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), eggs at different calcium and magnesium concentrations. *Aquaculture* 228: 279-287.
- Silva L.V.F., Golombieski J.I., Baldisserotto B. 2005. Growth and survival of silver catfish larvae, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae), at different calcium and magnesium concentrations. *Neotropical Ichthyology* 3: 299-304.
- Sinha A.K., Liew H.J., Diricx M., Blust R., De Boeck G. 2012a. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L.). *Aquatic Toxicol.* 109: 33-46.
- Sinha A.K., Liew H.J., Diricx M., Kumar V., Darras V.M., Blust R., De Boeck G. 2012b. Combined effects of high environmental ammonia, starvation and exercise on hormonal and ion-regulatory response in goldfish (*Carassius auratus* L.). *Aquatic Toxicol.* 114-115: 153-164.
- Sinha A.K., Diricx M., Chan L.P., Liew H.J., Kumar V., Blust R., De Boeck G. 2012c. Expression pattern of potential biomarker genes related to growth, ion regulation and stress in response to ammonia exposure, food deprivation and exercise in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicol.* 122-123: 93-105.
- Tomasso J.R., Chervi A., Goudie B., Simco A., Davis K.B. 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society* 109: 229-234.
- Townsend C.R., Baldisserotto B. 2001. Survival of silver catfish fingerlings exposed to acute changes of water pH and hardness. *Aquaculture Intern.* 9: 413-419.
- Townsend C.R., Silva L.V.F., Baldisserotto B. 2003. Growth and survival of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) larvae exposed to different levels of water hardness. *Aquaculture* 215: 103-108.
- Wajsbrodt N., Gasith A., Diamant A., Popper D.M. 1993. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *J. Fish Biol.* 42: 321-328.
- Weirich C.R., Tomasso J.R., Smith T.I.J. 1993. Toxicity of ammonia and nitrite to sunshine bass in selected environments. *Journal of Aquatic Animal Health* 5: 64-72.



Efecto del amoníaco y la dureza del agua en la expresión de prolactina, hormona del crecimiento, somatotactina y niveles plasmáticos de cortisol en el pez de agua dulce *Rhamdia quelen*

Martos-Silcha, J.A. (1,2), Martínez-Rodríguez, G. (1), Mancera, J.M. (2), Toni, C. (3), Prati, R.L. (4), García, L.O. (4), Salbego, J. (3), Baldisserotto, B. (3)

1 Departamento de Biología Marina y Acuicultura, Instituto de Ciencias Marinas de Arica, 11010 Puerto Real (Cádiz)
 2 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz)
 3 Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS – Brasil.
 4 Instituto de Oceanografía, Estação Marinha de Aquicultura, Universidade Federal do Rio Grande – RS – Brasil.

INTRODUCCIÓN

El amoníaco es el principal compuesto nitrogenado en el proceso de excreción de peces teleosteos, principalmente a través de las branquias. Este compuesto puede encontrarse en el agua como forma de amonio ionizado (NH_4^+) o en su forma estable no ionizada (NH_3). El compuesto no ionizado es la forma más tóxica (Miron et al., 2008), y puede causar cambios importantes en la osmolaridad plasmática y/o en el balance electrolítico (McDonald y Milligan, 1997; Becker et al., 2009), además de en el sistema endocrino a través de cambios en la liberación de diversas hormonas (Barton e Iwama, 1991).

Los procesos de excreción de amoníaco en las branquias están influenciados por la actuación de iones divalentes. De hecho, ha sido propuesto que la presencia de niveles elevados de Ca^{2+} en el agua participaría en la reducción de la toxicidad del NH_3 para algunas especies de peces, incluido el bagre (*Rhamdia quelen*).

Aun así, no existen estudios previos realizados en peces sobre el efecto de amoníaco y/o dureza del agua en la expresión de hormonas hipofisarias, tales como prolactina (PRL), hormona del crecimiento (GH), y somatotactina (SL), relacionadas con el control de varios procesos fisiológicos como osmoregulación, estrés, crecimiento o metabolismo del calcio.

OBJETIVO

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de diversas combinaciones de amoníaco y dureza de agua sobre la expresión de las hormonas hipofisarias PRL, GH y SL, y sobre los niveles de cortisol plasmático en el bagre (*Rhamdia quelen*).

MATERIAL Y MÉTODOS



Se testaron seis tratamientos en triplicado
 Tres niveles de NH_3 (0,01; 0,18; 0,50 mg/L)
 X
 Dos niveles de dureza de agua (25 and 120 mg/L CaCO_3)
Muestras
 0 (control), 1 y 5 días de exposición

Cortisol plasmático (modificado de Rodríguez et al., 2000)



Extracción de ARN total y qPCR



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

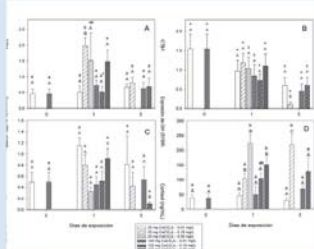


Figura 1. Niveles de expresión de prolactina (PRL), GH y somatotactina (SL), y niveles plasmáticos de cortisol (C) en ejemplares de bagre expuestos a diferentes niveles de amoníaco y dureza de agua. Observadas varias interacciones (indica diferencias significativas entre tratamientos en el mismo día de exposición. Diferentes letras significativas indican diferencias significativas entre diferentes días de exposición para el mismo tratamiento. *Diferencias significativas para el mismo nivel de NH_3 en 25 mg CaCO_3 .

	1 día de exposición		5 días de exposición	
	25 mg L ⁻¹ CaCO ₃	120 mg L ⁻¹ CaCO ₃	25 mg L ⁻¹ CaCO ₃	120 mg L ⁻¹ CaCO ₃
PRL	Amoníaco 0,18 mg L ⁻¹ ↑			Amoníaco 0,18 mg L ⁻¹ ↓
GH			Amoníaco 0,18 mg L ⁻¹ ↓	
SL				Amoníaco 0,18 mg L ⁻¹ ↓
Cortisol	Amoníaco 0,18 mg L ⁻¹ ↑			Amoníaco 0,18 mg L ⁻¹ ↑
	Amoníaco 0,50 mg L ⁻¹ ↑		Amoníaco 0,50 mg L ⁻¹ ↑	

Tabla 1. Resumen de los resultados obtenidos en expresión de PRL (Fig. 1A), GH (Fig. 1B) y SL (Fig. 1C), y de los niveles de cortisol plasmático (Fig. 1D) mediante diferentes combinaciones de CaCO_3 y dureza de agua.

En conclusión, los mayores niveles de dureza de agua testados en este experimento mejoran los parámetros evaluados en ejemplares de *R. quelen* expuestos a diferentes niveles de NH_3 .

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el Proyecto 47318/2011-1 (Consejo Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) otorgado a BB, y por el Proyecto AGL2010-14876 (Ministerio de Educación y Ciencia, España) otorgado a JMM. JAM-S está financiado por el Ministerio de Educación (España) a través del programa "Formación de Profesorado Universitario (FPU)" (Ref: AP2008-01194).

REFERENCIAS

Barton, B.A. e Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases* 1: 539.
 Becken, A.S., Garcia, L.O., Fachion, D., Gasparotto, J.F., Lora, V.L. y Baldisserotto, B. 2008. Standard regimen and ammonia levels in water treat other plasma ions content and pH stability in a silver catfish, *Catfish* *Rhamdia quelen*. *Water* 20: 1169-1174.
 McDonald, D.B. y Milligan, L. 1997. Ionic, osmotic, and acid-base regulation in stress. In: Barton, G.K. et al. *Fish stress and health in aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, 21-134.
 Miron, S.B., Miron, R., Becken, A., Crestani, W., Spaventini, R., Lora, V.L. y Baldisserotto, B. 2008. Ammonia and pH effects on some osmoregulatory parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pisces: Serrasalminae). *Aquaculture* 272: 189-196.
 Rodriguez, L., Bergazzi, L., Zanay B. y Corbelli, M. 2003. Development and validation of an enzyme immunoassay for testosterone: Effects of pheromone on plasma testosterone levels and gonadal development in male sea bass (*Oreochromis latescens*, L.) at puberty. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 141-153.

Efectos del amonio sobre el metabolismo energético del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*)

Ruiz-Jarabo¹ I., Janse² J., Mancera¹ J.M.

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España.

²Aquatic Eco Technology Department, Hogeschool Zeeland, Zeeland, The Netherlands
ignacio.ruizjarabo@uca.es

RESUMEN

Se investigaron los efectos subletales del amonio sobre el metabolismo energético y osmorregulador en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). Especímenes juveniles (peso inicial de 6.2 ± 0.2 g y longitud furcal de 8.9 ± 0.1 cm) fueron distribuidos en 9 tanques de fibra de vidrio (60x60x10 cm, densidad de 10 animales por tanque) en régimen de circuito abierto y se probaron tres concentraciones de amonio por triplicado (0.0, 7.8 y 17.5 mg N-NH₄ L⁻¹) durante 22 días. Los niveles de amonio se mantenían en la concentración deseada bombeando una solución de cloruro de amonio concentrada al agua de entrada y realizando un seguimiento diario de la concentración real del mismo en los tanques. Además se controlaron los parámetros físico-químicos más relevantes de cara a la especiación química del amonio, manteniéndolos en un rango en torno a 39.4 ppt de salinidad, pH de 7.75 y 18.8 °C de temperatura. Los efectos del amonio sobre el crecimiento, niveles de glucosa y cortisol plasmáticos, así como el metabolismo energético en hígado fueron analizados. Los resultados muestran un claro efecto negativo sobre el factor de condición de los animales en los grupos con mayor concentración de amonio. Así mismo, se observa un descenso en la glucosa y un aumento del cortisol plasmático en los grupos sometidos a la concentración más elevada de tóxico, mientras que se mantienen los metabolitos analizados en hígado. El índice hepatosomático no presenta variaciones entre grupos, pero sí que existen diferencias en la

actividad de las enzimas G6PDH, G3PDH y GDH hepáticas, sugiriendo una movilización de los recursos energéticos desde la periferia hacia este órgano. De este modo, se observa en el hígado una elevada actividad de la GDH que sugiere una alta tasa de detoxificación en los grupos sometidos a amonio, así como una alta actividad de la G6PDH y la G3PDH, las cuales intervendrían en la producción de energía y poder reductor. Nuestros resultados indican que, incluso a bajas concentraciones de amonio en el medio, el lenguado senegalés ve negativamente afectado su crecimiento debido a un gasto de energía en procesos de detoxificación.

PALABRAS CLAVE

Solea senegalensis, amonio, metabolismo, hígado.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los teleósteos marinos son amoniotéticos, produciendo amonio como producto final del catabolismo de las proteínas (Randall and Wright, 1987; Foss *et al.*, 2003) y excretándolo a través de las branquias al medio externo (Eddy, 2005). El equilibrio existente entre las formas químicas del amonio, y por ende su toxicidad, que se debe principalmente a la forma no ionizada (NH_3), se ve afectado por parámetros ambientales tales como la temperatura, pH, alcalinidad, salinidad y niveles de oxígeno (Foss *et al.*, 2003).

La exposición al amoniaco puede afectar a los teleósteos inhibiendo el apetito (Paust *et al.*, 2011), reduciendo su crecimiento (Foss *et al.*, 2003; Lemarié *et al.*, 2004; Pinto *et al.*, 2007; Hegazi and Hasanein, 2010), produciendo peroxidación lipídica en branquias (Ching *et al.*, 2009) y alterando el metabolismo energético (Arillo *et al.*, 1981) entre otros procesos. El amoniaco actúa como agente estresante y produce efectos adversos sobre los organismos. La respuesta integrada al estrés en peces comprende la activación del eje hipotálamo-hipófisis-interrenal (HHI), liberando cortisol (Wendelaar Bonga and Balm, 1999). Esta hormona estimula la movilización de reservas energéticas e incrementa los valores de metabolitos plasmáticos (Mommsen *et al.*, 1999), todo ello encaminado a la producción de energía para poder hacer frente a la situación de estrés.

En ambientes con elevados niveles de nitrógeno amoniacal, los peces acumulan amonio y aminoácidos libres en varios órganos, aumentando los niveles de enzimas como la glutamato

deshidrogenasa (GDH) (Saha *et al.*, 2002; Smutna *et al.*, 2002; Wicks and Randall, 2002) con el objeto de detoxificar el amonio para formar glutamato y glutamina (Ip *et al.*, 2004; Eddy, 2005; Peh *et al.*, 2010). De este modo, el amonio se convierte en aminoácidos no esenciales (Saha *et al.*, 2002), afectando al metabolismo de los especímenes (Pinto *et al.*, 2007). A nivel hepático otras rutas metabólicas, tales como la glucolisis, glucogenolisis o pentosas fosfato son también modificadas (Carvalho *et al.*, 2008). Los mecanismos de detoxificación del amonio mediante estas rutas varían considerablemente entre especies (Iwata, 1988).

El lenguado senegalés, *Solea senegalensis*, es un pleuronectiforme cultivado a nivel comercial en la Península Ibérica y que ha servido también como modelo para estudiar en profundidad aspectos de su biología tales como los sistemas tiroideo y osmorregulador (Arjona *et al.*, 2007; Wunderink *et al.*, 2008), el cultivo larvario (Salas-Leiton *et al.*, 2012) o los efectos del amonio sobre el crecimiento y los niveles de aminoácidos (Pinto *et al.*, 2007; Weber *et al.*, 2012). El presente trabajo, por tanto, busca describir los efectos del amonio sobre el metabolismo energético de los peces usando el lenguado senegalés como modelo biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Ejemplares juveniles ($8,9 \pm 0,1$ cm y $6,2 \pm 0,2$ g) de lenguado senegalés, *Solea senegalensis*, procedentes de la Planta de Cultivos Marinos de la Universidad de Cádiz (CASEM Puerto Real, Cádiz), fueron mantenidos en tanques de fibra de vidrio de 36 L en régimen de circuito abierto. Los especímenes fueron pesados y medidos, y se distribuyeron en tres grupos experimentales (por triplicado, $n=10$ individuos por tanque) sometidos a diferentes concentraciones de nitrógeno amoniacal total (TAN): i) $0,1 \pm 0,2$, ii) $7,9 \pm 0,3$ y iii) $17,8 \pm 1,3$ mg TAN L⁻¹ para los grupos control, media y alta concentración de amoniaco, respectivamente. Se mantuvieron esas concentraciones mediante un sistema de almacenamiento de agua en dos tanques de reserva con 1 y 2 g TAN L⁻¹ (mediante la adición de amonio cloruro, Panreac), de los cuales se bombeaba peristálticamente el amonio al agua de entrada de los tanques experimentales. Diariamente se analizaron temperatura ($18,8 \pm 0,1$ °C), salinidad ($39,4 \pm 0,2$ g L⁻¹), pH ($7,76 \pm 0,01$), oxígeno disuelto y TAN (mediante kit comercial de Merck). El fotoperiodo era natural en la provincia de Cádiz (España) para el mes de diciembre. La alimentación se realizó en dos tomas al 1,5 % de su peso al día. A los 22 días de experimento se procedió

a la toma de muestras tras 24 horas en ayunas. Los animales fueron anestesiados con dosis letal de 2-fenoxietanol, medidos y pesados. Mediante ablación caudal se les extrajo sangre usando capilares heparinizados, la cual fue centrifugada (3 min, 4 °C, 10 000 g) para obtener el plasma, congelándolo inmediatamente en nitrógeno líquido. Acto seguido se sacrificó a los animales mediante decapitación. Se separó el segundo arco branquial del lado ocular, se mantuvo en tampón SEI (150 mM Sacarosa, 10 mM EDTA, 50 mM Imidazol, pH 7,3) y se congeló en nitrógeno líquido. El hígado fue pesado y se congeló en nitrógeno líquido. Todas las muestras se mantuvieron a -80 °C hasta posterior análisis.

Cálculo del porcentaje de NH₃

El porcentaje de amoniaco se calculó a partir de los valores de TAN, pH, temperatura y salinidad usando la ecuación de Johansson y Wedborg (1980). De este modo, el porcentaje de amoniaco respecto del TAN viene dado por la siguiente ecuación:

$$\%NH_3 = 100 / [1 + 10^{(\log K_1 - \text{pH})}]$$

donde

$$\log K_1 = -0,467 + 0,00113 * S + 2887,9 * T^{-1}$$

siendo K_1 la constante de disociación, S (en g L⁻¹) la salinidad, y T la temperatura (°K).

Cálculo de índices somáticos y de crecimiento

Se calcularon los siguientes índices biométricos:

- ❖ Ganancia en peso (WG): $WG = 100 * (P_f - P_i)$
- ❖ Factor de condición (K): $K = 100 * (P_f / L_f^3)$
- ❖ Índice hepatosomático (IHS): $IHS = 100 * (P_h / P_f)$
- ❖ Índice hepato-longitudinal (IHL): $IHL = 100 * (100 * P_h / L_f^3)$

siendo P_f y P_i los pesos final e inicial (g), L_f la longitud final (cm) y P_h el peso del hígado (g).

MÉTODOS ANALÍTICOS

Determinaciones en plasma

La glucosa se midió mediante kit comercial de Spinreact (Glucose-HK, ref. 1001200). El cortisol se cuantificó mediante ensayo ELISA adaptado por Rodríguez *et al.* (2000) usándose reactivos de Cayman Chemical Company (Michigan, USA).

Metabolitos en hígado

El hígado congelado se troceó finamente sobre una placa de Petri en hielo para luego homogeneizarlo mediante un Ultra-Turrax T25 basic (IKA-Werke) con 7,5 volúmenes de 0,6 N ácido perclórico, neutralizado (con 1 M de bicarbonato de potasio), centrifugado (30 min a 3220 g, 4 °C) y el sobrenadante fue usado para analizar los metabolitos. Antes de la centrifugación, una alícuota se extrajo y se congeló a -80 °C para el análisis de los TAG mediante kit comercial (Spinreact, TAG, ref. 10013110). La concentración de glucógeno en el tejido se analizó mediante el método de Keppler and Decker (1974). La glucosa obtenida tras la ruptura del glucógeno (y tras extraer la glucosa libre) se determinó mediante kit comercial (Spinreact).

Actividades enzimáticas en hígado

El hígado congelado se troceó finamente sobre una placa de Petri en hielo para luego homogeneizarlo mediante disrupción ultrasónica (Misonix inc., Microson Ultrasonic liquid processor XL-2000) con 10 vol de un búfer que contiene: 50 mM imidazol (Sigma I-0125) (pH 7.5), 1 mM mercaptoetanol (Sigma M-3148), 50 mM NaF (Merck ref. 1.06449), 4 mM EDTA (Sigma ED2SS), 0.5 mM PMSF (Sigma P-7626) y 250 mM sacarosa (Sigma S-9378). El homogeneizado se centrifugó a 10 000 g, 30 min, 4 °C y el sobrenadante se congeló inmediatamente con hielo seco para mantenerlo después a -80 °C hasta posterior análisis. Las velocidades de reacción se determinaron mediante el aumento o descenso de la absorbancia del NAD(P)H a 340 nm. Las reacciones se llevaron a cabo con 15 µL de homogeneizado (en duplicado), a una concentración de proteínas determinada, omitiendo el sustrato en los pocillos control, añadiendo una solución de incubación (hasta alcanzar un volumen de 275-295 µL, dependiendo de la enzima analizada) e incubando las microplacas a 37 °C. Las condiciones específicas para las enzimas glutamato deshidrogenasa (GDH, EC 1.4.1.2), glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH, EC 1.1.1.49) y glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH, EC 1.1.1.8) han sido previamente descritas (Polakoff *et al.*, 2006), llevándose a cabo los análisis en condiciones de velocidad enzimática óptima para *Solea senegalensis* (resultados no mostrados). La concentración de proteínas se analizó por triplicado del mismo modo que en plasma.

ESTADÍSTICA

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante ANOVA de una vía, analizando normalidad y homocedasticidad previamente mediante los test de Kolmogoroff-Smirnoff y Levene, respectivamente. Se realizaron transformaciones logarítmicas cuando fue necesario. Se realizó un análisis post hoc mediante el test de Tukey, considerándose diferencias significativas entre grupos cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Las concentraciones de TAN se mantuvieron estables durante todo el periodo, pudiendo calcularse un valor medio significativo para cada grupo experimental (Tabla I).

Tabla I.- Concentración de nitrógeno amoniacal total (TAN) y de amoniaco en los tanques experimentales tras 22 días. Valores expresados como media \pm ESM.

Grupo	TAN (mg L ⁻¹)	NH ₃ (µg L ⁻¹)
Control	0,1 \pm 0,2	0 \pm 4
Media	7,9 \pm 0,3	131 \pm 14
Alta	17,8 \pm 1,3	285 \pm 35

Los ejemplares mantenidos en el grupo control presentaron un factor de condición más elevado que en los grupos a media y alta concentración de amoniaco. El índice que relaciona el peso del hígado con la longitud del cuerpo (IHL) presentó su valor máximo en los animales del grupo mantenido con la concentración media de amoniaco, mientras que el grupo con el IHL más bajo fue el grupo de alta concentración, no habiendo diferencias significativas entre estos dos grupos y el control. No se aprecian diferencias significativas en la ganancia en peso (WG) ni en el índice hepatosomático entre los diferentes grupos experimentales (Tabla II).

Tabla II.- Parámetros de crecimiento en *S. senegalensis* sometidos a diferentes concentraciones de NH_3 (Control: 0 ± 4 ; Media: 131 ± 14 ; o Alta: $285 \pm 35 \mu\text{g NH}_3 \text{ L}^{-1}$) durante 22 días. Ganancia en peso (WG), factor de condición (K), índice hepatosomático (IHS) e índice hepato-longitudinal. Media \pm SEM (n=24-30). Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$, ANOVA de una vía).

Grupo	WG (%)	K (g cm^3)	IHS (%)	IHL (%)
Control	$-5,5 \pm 1,3$	$0,90 \pm 0,00^a$	$0,82 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,03^{ab}$
Media	$-8,9 \pm 0,4$	$0,88 \pm 0,01^{ab}$	$0,85 \pm 0,06$	$0,80 \pm 0,05^a$
Alta	$-7,9 \pm 1,7$	$0,84 \pm 0,01^b$	$0,73 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,05^b$

El grupo control presentó unos valores de glucosa plasmática significativamente más elevados que en los grupos a media y alta concentración de amoníaco (Tabla III). El cortisol presentó sus valores más elevados en el grupo de alta concentración, y los menores en el de media concentración, siendo los del grupo control intermedios entre los otros dos grupos, sin diferencias significativas con ninguno (Tabla III). Sin embargo, los metabolitos hepáticos no presentan diferencias significativas entre grupos (Tabla IV).

Tabla III.- Parámetros plasmáticos en *S. senegalensis* sometidos a diferentes concentraciones de NH_3 durante 22 días. Más información en Tabla 2.

Parámetro	Control	Media	Alta
Glucosa (mM)	$5,0 \pm 0,5^a$	$3,0 \pm 0,5^b$	$2,1 \pm 0,2^b$
Cortisol (ng mL^{-1})	$50,4 \pm 9,4^{ab}$	$36,8 \pm 10,4^b$	$90,6 \pm 20,7^a$

Tabla IV.- Parámetros hepáticos en *S. senegalensis* sometidos a diferentes concentraciones de NH_3 durante 22 días. Más información en tabla II.

Metabolito	Control	Media	Alta
Glucosa (mg glc g pf^{-1})	$5,4 \pm 0,5$	$5,0 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,6$
Glucógeno (mg glc g pf^{-1})	$4,5 \pm 0,9$	$5,7 \pm 1,4$	$5,9 \pm 1,8$
TAG (mg TAG g pf^{-1})	$20,4 \pm 7,5$	$28,2 \pm 4,3$	$33,8 \pm 9,5$

En cuanto a las actividades enzimáticas en hígado, sí se aprecian diferencias entre los diferentes grupos (Tabla V). La G6PDH aumentó en el grupo a alta concentración de amonio, siendo significativamente menor en el grupo control. La G3PDH es significativamente más alta en el grupo de alta concentración respecto al grupo de media concentración, no existiendo diferencias entre estos grupos y el control. Por último la GDH es significativamente más alta en el grupo de media concentración respecto al control, mientras que el grupo mantenido a alta concentración no presenta diferencias respecto a los otros dos grupos.

Tabla V.- Actividad de enzimas metabólicas en hígado (expresadas como U mg prot⁻¹) de *S. senegalensis* sometidos a diferentes concentraciones de NH₃ durante 22 días. Más información en Tabla II.

Act. enzimática	Control	Media	Alta
G6PDH	1,8 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,2 ^{ab}	2,6 ± 0,2 ^a
G3PDH	0,76 ± 0,05 ^{ab}	0,65 ± 0,04 ^b	0,81 ± 0,05 ^a
GDH	4,6 ± 0,6 ^b	7,1 ± 0,4 ^a	5,8 ± 0,4 ^{ab}

DISCUSIÓN

Tras 22 días de exposición a concentraciones de TAN de 0, 8 y 18 mg L⁻¹, juveniles de lenguado senegalés, *Solea senegalensis*, no presentaron mortalidad en ninguno de los grupos experimentales. Sin embargo, el crecimiento de los animales se vio comprometido en el presente trabajo puesto que la ganancia en peso fue negativa en todos los grupos experimentales, disminuyendo así mismo el factor de condición a medida que aumentó el amoníaco en el medio. Esto concuerda con lo descrito por otros autores, los cuales indican que incluso a concentraciones de amoníaco menores que las usadas en el presente trabajo (Foss *et al.*, 2003; 2009), los especímenes comían menos y reducían su crecimiento. El amonio, como producto final del catabolismo de las proteínas, resulta tóxico a altas concentraciones, por lo que la respuesta primera en los peces teleósteos es la inhibición del apetito (Eddy, 2005; Foss *et al.*, 2003; 2009) con el objeto de frenar la producción del mismo, lo que origina una reducción del crecimiento corporal (Pinto *et al.*, 2007).

Los teleósteos modifican su metabolismo catabólico al ser expuestos a amoníaco en el medio, necesitando energía procedente del glucógeno hepático (Sinha *et al.*, 2012) o de reservas musculares (Hegazi *et al.*, 2010; Sinha *et al.*, 2012). Esta situación podría explicar

la disminución en los valores de glucosa plasmática respecto al grupo control en *S. senegalensis* (presente trabajo) así como la disminución del factor de condición en los animales sometidos a la concentración más elevada de amoníaco. Esta glucosa procedería de reservas de glucógeno hepático y/o de reservas de proteínas y glucógeno musculares debido a un incremento en las rutas de glucogenolisis y gluconeogénesis. Los elevados valores de cortisol plasmático observados en los ejemplares sometidos a valores de amonio alto serían los responsables del incremento de estas rutas metabólicas. El cortisol es una hormona glucocorticoide que juega un papel muy importante en la movilización de substratos energéticos en los peces (Mommsen *et al.*, 1999), y es capaz de volver a sus niveles basales tras una aclimatación al amoníaco (Pinto *et al.*, 2007), tal y como muestran los resultados en el presente trabajo para el grupo sometido a una concentración de 7,9 mg TAN L⁻¹, pero que sin embargo permanece elevado en el grupo a la mayor concentración testada (17,8 mg TAN L⁻¹), lo que indicaría unas condiciones de estrés crónico en el mismo.

Debido a intoxicación por amonio, los aminoácidos pueden disminuir para formar parte del ciclo de Krebs, la glucolisis o la gluconeogénesis para satisfacer la demanda de energía, así mismo también pueden destinarse a la formación de las nuevas proteínas que una situación de estrés precisa (Zeba and Khan, 2006; Kumar *et al.*, 2011; 2012). Los resultados del presente trabajo sugieren la existencia de una movilización de aminoácidos y grasas procedentes de reservas musculares en el grupo sometido a las concentraciones media y alta de amoníaco, puesto que disminuye el factor de condición (K) respecto a los animales control. En el grupo de más alta concentración de amonio se estaría movilizando también reservas hepáticas, puesto que el IHL disminuye drásticamente en este grupo. El hecho de que los niveles de glucógeno y TAG permanezcan constantes en relación al peso total del hígado indica que se estaría haciendo uso de ambos tipos de reservas metabólicas en el grupo mantenido en la concentración más alta de amoníaco.

El hígado es uno de los principales órganos de detoxificación del amonio en peces teleósteos (Saha *et al.*, 2002; Smutna *et al.*, 2002; Sinha *et al.*, 2012). El amonio es un agente causante de estrés oxidativo en peces, tal y como se ha descrito para la tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, produciendo glutatión en animales expuestos a concentraciones de 10 mg TAN L⁻¹ (Hegazi *et al.*, 2010). La G6PDH es necesaria para regenerar el glutatión y hacer frente a estas situaciones de estrés oxidativo, así como para la producción de poder reductor (NADPH) mediante la vía de las pentosas fosfato (Carvalho *et al.*, 2008). El glicerol procedente de las reservas lipídicas es sustrato de la enzima G3PDG, formando dihidroxiacetona fosfato (Ditlecadet *et al.*, 2011), la cual es capaz de producir piruvato a través de la glucolisis (Foufelle and Ferré, 2002). La GDH cataliza la conversión del amonio, junto con oxoglutarato y NADPH hacia glutamato en teleósteos como el *Bostrychus sinensis* (Peh *et al.*, 2010). Este glutamato es un potente neurotransmisor que puede llegar a producir desequilibrios en el

sistema nervioso central (Lemarie *et al.*, 2004), por lo que ciertos tejidos tienen la capacidad de producir a partir de él y junto con otra molécula de amonio, glutamina, molécula menos tóxica que el glutamato (Wee *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2011; 2012). También puede enviarse por el torrente sanguíneo el glutamato a otros tejidos, formando aminoácidos no esenciales (Peh *et al.*, 2010). El piruvato, junto con el glutamato producido a partir del amonio son sustratos de la alanina y la aspartato aminotransferasas, las cuales en situaciones de altos niveles de amonio son capaces de producir oxoglutarato, alanina y aspartato (Saha *et al.*, 2002). Aminoácidos como la alanina son capaces de modular la actividad de la G6PDH para producir poder reductor (Sanden *et al.*, 2003), así como de participar en la gluconeogénesis por su facilidad de transferir grupos amino al piruvato (Rodwell, 1988).

CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que el amonio, a concentraciones de 7,8 y 17,5 mg N-NH₄ L⁻¹ resulta tóxico para el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) en su fase juvenil, provocando retardos en su crecimiento así como un gasto de energía para detoxificar el exceso de amonio acumulado en el cuerpo. Los mecanismos generales concuerdan con los de otras especies de peces teleósteos, las cuales sintetizan glutamato y glutamina a partir del amonio, así como otros aminoácidos no esenciales. Sin embargo, la regulación exacta precisa de futuros estudios para poder conocer los umbrales de toxicidad del amoniaco así como los procesos de detoxificación del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Arillo A., Margiocco C., Melodia F., Mensi P., Schemone, G. 1981. Ammonia toxicity mechanism in fish: studies on rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.). *Ecotoxicol. Environ. Safety* 5: 316-328.
- Arjona F.J., Vargas-Chacoff L., Ruiz-Jarabo I., Martín del Río M.P., Mancera, J.M. 2007. Osmoregulatory response of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to changes in environmental salinity. *Comp. Biochem. Physiol.* 148A: 413-421.
- Carvalho C.S., Fernandes, M.N. 2008. Effect of copper on liver key enzymes of anaerobic glucose metabolism from freshwater tropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 151A: 437-442.

- Ching B., Chew S.F., Wong W.P., Yuen K., Ip, Y.K. 2009. Environmental ammonia exposure induces oxidative stress in gills and brain of *Boleophthalmus boddarti* (mudskipper). *Aquat. Toxicol.* 95: 203–212.
- Ditlecadet D., Short C.E., Driedzic W.R. 2011. Glycerol loss to water exceeds glycerol catabolism via glycerol kinase in freeze-resistant rainbow smelt (*Osmerus mordax*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300: R674–R684.
- Eddy F.B. 2005. Ammonia in estuaries and effects on fish. *J. Fish Biol.* 67: 1495–1513.
- Foss A., Vollen T., Oiestad, V. 2003. Growth and oxygen consumption in normal and O₂ supersaturated water, and interactive effects of O₂ saturation and ammonia on growth in spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen). *Aquaculture* 224: 105–116.
- Foss A., Imsland A.K., Roth B., Schram E., Stefansson S.O. 2009. Effects of chronic and periodic exposure to ammonia on growth and blood physiology in juvenile turbot. *Aquaculture* 296: 45–50.
- Foufelle F., Ferré P. 2002. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem. J.* 366: 377–391.
- Hegazi M.M., Hasanein S.S. 2010. Effects of chronic exposure to ammonia concentrations on brain monoamines and ATPases of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 151: 420–425.
- Hegazi M.M., Attia Z.I., Ashour O.A. 2010. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquat. Toxicol.* 99: 118–125.
- Ip Y.K., Chew S.F., Randall D.J. 2004. Five tropical fishes, six different strategies to defend against ammonia toxicity on land. *Physiol. Biochem. Zool.* 77: 768–782.
- Iwata K. 1988. Nitrogen metabolism in the mudskipper *Periophthalmus cantonensis*: changes in free amino acids and related compounds in various tissues under conditions of ammonia loading, with special reference to its high ammonia tolerance. *Comp. Biochem. Physiol.* 91A: 499–508.
- Johansson O., Wedborg, M. 1980. The ammonia–ammonium equilibrium in seawater at temperatures between 5 and 25 °C. *J. Solut. Chem.* 9: 37–44.
- Keppler D., Decker K. 1974. Glycogen: Determination with amyloglucosidase. In: Bergmeyer HU (ed) *Methods of enzymatic analysis*. Academic, New York, pp 1127–1131.
- Kumar A., Sharma B., Pandey, R.S. 2011. Cypermethrin induced alterations in nitrogen metabolism in freshwater fishes. *Chemosphere* 83: 492–501.
- Kumar A., Sharma B., Pandey, R.S. 2012. Alterations in nitrogen metabolism in freshwater fishes, *Channa punctatus* and *Clarias batrachus*, exposed to a commercial-grade

- k-cyhalothrin, REEVA-5. *Int. J. Exp. Path.* 93: 34–45.
- Lemarié G., Dosdat A., Covès D., Dutto G., Gasset G., Person-Le Ruyet J. 2004. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 229: 479–491.
- Mommsen T.P., Walsh P.J. 1992. Biochemical and environmental perspectives on nitrogen metabolism in fishes. *Experientia* 48: 583–592.
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9: 211–268.
- Paust L.O., Foss A., Imsland A.K. 2011. Effects of chronic and periodic exposure to ammonia on growth, food conversion efficiency and blood physiology in juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 315: 400–406.
- Peh W.Y.X., Chew S.F., Ching B.Y., Loong A.M., Ip Y.K. 2010. Roles of intestinal glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase in environmental ammonia detoxification in the euryhaline four-eyed sleeper, *Bostrychus sinensis*. *Aquat. Toxicol.* 98: 91–98.
- Pinto W., Arago C., Soares F., Dinis M.T., Conceicao L.E.C. 2007. Growth, stress response and free amino acid levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) chronically exposed to exogenous ammonia. *Aquac. Res.* 38: 1198–1204.
- Polakof S., Arjona F.J., Sangiao-Alvarellos S., Martín del Río M.P., Mancera, J.M., Soengas J.L. 2006. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *J. Comp. Physiol.* 176B: 441–452.
- Randall D.J., Wright, P.A., 1987. Ammonia distribution and excretion in fish. *Fish Physiol. Biochem.* 3: 107–120.
- Rodríguez L., Begtashi I., Zanuy S., Carrillo M. 2000. Development and validation of an enzyme immunoassay for testosterone: Effects of photoperiod on plasma testosterone levels and gonadal development in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) at puberty. *Fish Physiol. Biochem.* 23: 141–150.
- Rodwell V.W. 1988. Metabolism of proteins and amino acids. In: Martin, D.W., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (Eds.), Harper's Review.
- Saha N., Dutta S., Bhattacharjee, A. 2002. Role of amino acid metabolism in an air-breathing catfish, *Clarias batrachus* in response to exposure to a high concentration of exogenous ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 133B: 235–250.
- Salas-Leiton E., Rodríguez-Rúa A., Asensio E., Infante C., Manchado M., Fernández-Díaz C., Cañavate J.P. 2012. Effect of salinity on egg hatching, yolk sac absorption and larval rearing of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). *Reviews in*

Aquaculture 4: 49–58.

- Sanden M., Froyland L., Hemre G-I. 2003. Modulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and malic enzyme activity by glucose and alanine in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. hepatocytes. *Aquaculture* 221: 469–480.
- Sinha A.K., Liew H.J., Diricx M., Blust R., de Broeck G. 2012. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L.). *Aquat. Toxicol.* 109: 33–46.
- Smutná M., Vorlová L., Svobodová, Z. 2002. Pathobiochemistry of ammonia in the internal environment of fish (Review). *Acta Vet. Brno* 71: 169–181.
- Weber R.A., Pérez J.J., Mancebo M.J., Peleteiro J.B., García L.O., Aldegunde, M. 2012. Effects of acute exposure to exogenous ammonia on cerebral monoaminergic neurotransmitters in juvenile *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology* 21: 362–369.
- Wee N.L.J., Tng Y.Y.M., Cheng H.T., Lee S.M.L., Chew S.F., Ip Y.K. 2007. Ammonia toxicity and tolerance in the brain of the African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquat. Toxicol.* 82: 204–213.
- Wendelaar Bonga S.E., Balm P.H.M. 1999. Histological and histopathological effects of stress. In: *Stress Physiology in Animals* (ed. by P.H.M. Balm), pp. 179-204. CRC Press, Sheffield, UK.
- Wicks B.J., Randall D.J. 2002. The effect of sublethal ammonia exposure on fed and unfed rainbow trout: role of glutamine in the regulation of ammonia. *Comp. Biochem. Physiol.* 132: 275–285.
- Wunderink Y.S., Klaren P.H.M., Yúfera M., Mancera J.M., Flik, G. 2008. The thyroid gland and thyroid hormones in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) during early development and metamorphosis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 155: 686–694.
- Zeba M., Khan M.A. 2006. Effect of fenvalerate on protein and amino acid contents and enzyme activities in the ostracod *Chrissia halyi*. *Pest. Manag. Sci.* 3: 279–282.



Efectos del amonio sobre el metabolismo energético del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*)

Ruiz-Jarabo, I.¹, Janse, J.² y Mancera, J.M.¹

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España.

² Aquatic Eco Technology Department, Hogeschool Zeeland, Zeeland, The Netherlands

Email: ignacio.rujarabo@uca.es

INTRODUCCIÓN

Los teleosteos excretan amonio como producto final del catabolismo proteico, el cual es tóxico para los peces, pudiendo inhibir el apetito, reducir el crecimiento o alterar el metabolismo energético entre otros procesos (revisado por Eddy, 2005). Las respuestas del organismo para hacer frente a esta molécula empiezan por la liberación de cortisol al plasma (Pinto et al., 2007), la movilización de reservas metabólicas (Sinha et al., 2012) y la conversión del amonio a glutamato, glutamina (Peh et al., 2010) y otros aminoácidos no esenciales (Saha et al., 2002).

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) es un pez plano ampliamente distribuido por el sur de la Península Ibérica, cultivado a nivel comercial para consumo humano y usado como modelo biológico en numerosas ocasiones.

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación pretende dar respuesta a cómo afecta el amonio al metabolismo energético en el lenguado senegalés.

Diseño Experimental

Animales de 8.9 ± 0.1 cm y 6.2 ± 0.2 g
Tres tanques de 36 L por cada condición experimental.
Circuito abierto.



Control (0.1 ± 0.2 mg TAN L⁻¹) Media (7.9 ± 0.3 mg TAN L⁻¹) Alta (17.8 ± 1.3 mg TAN L⁻¹)

Exposición durante 22 días

Salinidad = 39.4 ± 0.2 g L⁻¹
pH = 7.76 ± 0.01
Temperatura = 18.8 ± 0.1 °C
Fotoperiodo natural

Análisis

PARÁMETROS SOMÁTICOS Y DE CRECIMIENTO

Ganancia en peso (WG): $WG = 100 * (P_f - P_i) / (L_f - L_i)$

Factor de condición (K): $K = 100 * (P_f / L_f^3)$

Índice hepatosomático (IHS):

$IHS = 100 * (P_h / P_f)$

Índice hepato-longitudinal (IHL):

$IHL = 100 * (100 * P_h / L_f^3)$

Siendo P_f y P_i los pesos final e inicial (g), L_f la longitud final (cm) y P_h el peso del hígado (g).



HÍGADO
Glucosa
Glucógeno
TAG
Act. GDH
Act. G3PDH
Act. G6PDH

PLASMA
Cortisol
Glucosa

DISCUSIÓN

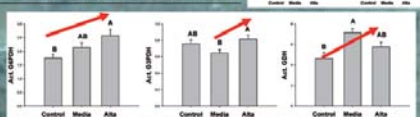
- 1) La enzima GDH convierte el amonio acumulado en el cuerpo en glutamato, gastando poder reductor y oxoglutarato (Peh et al., 2010).
- 2) La enzima G6PDH produce poder reductor a partir de G6P procedente de gluconeogénesis y gluconeogénesis. Además hace frente a situaciones de estrés oxidativo (Carvalho et al., 2008).
- 3) La G3PDH produce piruvato y energía mediante ciclo de Krebs, así como otras moléculas para la gluconeogénesis. Esta enzima se activa por catabolismo de reservas lipídicas (Dithecadet et al., 2011).
- 4) El cortisol moviliza las reservas metabólicas. Activa glucólisis, gluconeogénesis y gluconeogénesis (Mommisen et al., 1999).
- 5) Finalmente, el cuerpo transforma el glutamato en aminoácidos menos tóxicos, como la glutamina o la alanina (Saha et al., 2002) pudiendo, a su vez, ser sustratos de la G6PDH (Sanden et al., 2003).

CONCLUSIONES

El amonio, a concentraciones de 7.8 y 17.5 mg N-NH₄⁺ L⁻¹ resulta tóxico para el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) en su fase juvenil, provocando retardos en su crecimiento así como un gasto de energía para detoxificar el exceso de amonio acumulado en el cuerpo. Los mecanismos generales concuerdan con los de otras especies de peces teleosteos, las cuales sintetizan glutamato y glutamina a partir del amonio, así como otros aminoácidos no esenciales. Sin embargo, la regulación exacta precisa de futuros estudios para poder conocer los umbrales de toxicidad del amonio así como los procesos de detoxificación del mismo.

RESULTADOS

Grupo	WG (%)	K (g cm ³)	IHS (%)	IHL (%)
Control	-5.3 ± 1.3	0.90 ± 0.00*	0.82 ± 0.04	0.69 ± 0.03**
Media	-8.9 ± 0.4	0.88 ± 0.01**	0.85 ± 0.06	0.80 ± 0.05**
Alta	-7.9 ± 1.7	0.84 ± 0.01*	0.73 ± 0.03	0.62 ± 0.05*



REFERENCIAS

- Carvalho et al., 2008. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 151: 437-442.
Dithecadet et al., 2011. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 300: R674-R684.
Eddy, 2005. Journal of Fish Biology 67: 1495-1513.
Mommisen et al., 1999. Reviews in Fish Biology and Fisheries 9: 211-268.
Peh et al., 2010. Aquatic Toxicology 98: 93-98.
Pinto et al., 2007. Aquac. Res. 38: 1198-1204.
Saha et al., 2002. Comparative Biochemistry and Physiology Part B 133: 235-250.
Sanden et al., 2003. Aquaculture 221: 469-480.
Sinha et al., 2012. Aquatic Toxicology 109: 33-46.

Eficiencia digestiva en la langosta *Panulirus argus*: enzimas digestivas y dietas artificiales

Perera¹ E., Moyano² F. J., Martínez-Rodríguez³ G., Mancera⁴ J. M.

¹Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de la Habana, La Habana, Cuba.

²Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería, Almería, España.

³Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN), CSIC, Cádiz, España.

⁴Departamento de Biología, Universidad de Cádiz, Cádiz, España.

erickpb@cim.uh.cu, erickpbcim@yahoo.es

RESUMEN

El engorde de langostas espinosas a partir de postlarvas ha tenido un desarrollo acelerado en algunos países asiáticos, a base de una alimentación con alimento fresco. Sin embargo, la ausencia de dietas artificiales continúa siendo el mayor impedimento para la sostenibilidad de esta industria en la región Asia-Pacífico, así como para su desarrollo en otras regiones tropicales como el Caribe. A pesar de que se ha avanzado significativamente en la comprensión de los requerimientos nutricionales de langostas espinosas, existen muchas lagunas en el conocimiento de la bioquímica digestiva de las diferentes especies. En este trabajo se describen las principales enzimas digestivas de *Panulirus argus* respecto a su actividad y características operacionales. Además, se describen los fenotipos para las diferentes enzimas digestivas en dependencia de la combinación de isoformas presentes. Se profundiza en la variación fenotípica para el caso de las tripsinas como principales proteasas digestivas. Las variaciones en la eficiencia digestiva de los tres fenotipos principales de tripsina se estudió mediante el análisis de la digestibilidad *in vitro* de fuentes de proteínas, la purificación y caracterización cinética de las principales isoformas, y la digestión *in vitro* de proteínas modelo por las isoformas aisladas. También, se estudió el efecto del alimento artificial sobre las principales isoformas de tripsina y su regulación a nivel de secreción y expresión génica. Finalmente, se propone un

mecanismo de regulación para las enzimas tipo tripsina en la langosta y se proponen estudios futuros para una mejor comprensión de la digestión en langostas, y para incrementar la eficiencia en el aprovechamiento de dietas artificiales en langostas espinosas.

PALABRAS CLAVE

Panulirus, enzimas digestivas, tripsinas, isoformas, eficiencia digestiva.

1. INTRODUCCIÓN

Las langostas espinosas (Crustacea: Decapoda: Palinuridae) habitan las zonas bajas de las plataformas insulares y continentales, fundamentalmente en ambientes rocosos o de arrecifes. Estos crustáceos son uno de los recursos pesqueros más importantes del mundo por su altísimo valor comercial. La especie *Panulirus argus* es la que presenta la distribución geográfica más amplia, localizándose desde Carolina del Norte en EEUU hasta Brasil (Phillips and Melville-Smith, 2006).

Los hábitos gregarios de las langostas espinosas las hacen apropiadas para el cultivo. El cultivo larvario a escala comercial no ha sido factible hasta nuestros días a pesar de los avances que se han obtenido recientemente (Barnard *et al.*, 2011). En la actualidad, el mayor interés está centrado en la cría o engorde de postlarvas provenientes de captación natural. En los últimos años el engorde en jaulas de langostas espinosas a partir de postlarvas ha tenido un desarrollo acelerado en países asiáticos, sobre todo en Vietnam (Nguyen *et al.*, 2009). Las postlarvas son alimentadas con alimento fresco y alcanzan 1 Kg. en 18 meses con una supervivencia del 90%. Sin embargo, la ausencia de dietas artificiales se considera el mayor impedimento tanto para la sostenibilidad de esta industria en la región Asia-Pacífico (William, 2007), como para su desarrollo en otras regiones tropicales como el Caribe (Jeffs and Davis, 2003). A pesar de que se ha avanzado significativamente en la comprensión de los requerimientos nutricionales de langostas espinosas (William, 2007), se continúa careciendo de dietas formuladas apropiadas para estas especies. Las características generales de la digestión en langostas espinosas son similares a la mayoría de los decápodos estudiados, aunque existen muchas lagunas en el conocimiento de la bioquímica y fisiología digestiva de las diferentes especies.

2. PIENSOS Y METABOLISMO. RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE ENZIMAS DIGESTIVAS

La fuente de proteína de los piensos tiene un gran impacto en el metabolismo de *P. argus* (Perera *et al.*, 2007), y el efecto más inmediato de algunas harinas ocurre en la actividad de las enzimas digestivas (Perera *et al.*, 2005).

3. ENZIMAS DIGESTIVAS

Las enzimas presentes en el tracto digestivo de crustáceos decápodos han sido estudiadas en varias especies (Carrillo-Farnés *et al.*, 2007). Las principales enzimas digestivas son las carbohidrasas (fundamentalmente amilasas), las lipasas y fosfolipasas, las estererasas, y las proteasas. La langosta *P. argus* posee una amplia variedad de enzimas digestivas (tripsina, quimotripsina, amilasa, esterasa y lipasa) (Tabla I) (Perera *et al.*, 2008a). Los mayores porcentajes de inhibición de la actividad proteolítica total se obtuvieron con los inhibidores EDTA-Na₂ (41.8 %), aprotinina (46.7 %) y SBTI (55.8 %), lo cual indica que la mayor parte de la proteólisis recae en las metalo-proteasas, presumiblemente exopeptidasas, y en las serino-proteasas como la tripsina y quimotripsina, con predominio de la actividad tripsina (Tabla I). Las tripsinas también son las proteasas digestivas más importantes en otras especies de langostas espinosas (Galgani and Nagayama, 1987; Johnston, 2003; Celis-Guerrero *et al.*, 2004).

Tabla I.- Condiciones óptimas de temperatura, pH y fuerza iónica de las principales enzimas digestivas de la langosta *P. argus* (n=10), y distribución de las actividades ($\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$).

Actividad enzimática	Temperatura óptima (°C)	pH óptimo	Fuerza iónica óptima(mM NaCl)	Jugo gástrico	Glándula digestiva
Proteasas	60	7	no ensayada	no ensayada	no ensayada
Tripsina	60	7, 10-12	100-200	20,9 ± 4,462	1,32 ± 0,422
Quimotripsina	50	7 and 11	no se afecta	8,56 ± 0,564	0,28 ± 0,078
Esterasa	40-50	7, 9-11	200-500	1,76 ± 0,320	20,60 ± 6,305
Lipasa	40	7-9	20	0,07 ± 0,011	4,25 ± 2,732
Amilasa	50	4-5	20-100	33,38 ± 8,537	10,64 ± 4,330

3.1 ISOENZIMAS

La duplicación de genes ha jugado un papel importante en la evolución. En diversos grupos taxonómicos los genes de enzimas digestivas se organizan en familias génicas que surgieron por sucesivos eventos de duplicación. La organización de los genes de tripsinas en familias multigénicas ha sido estudiada en algunos crustáceos (Klein *et al.*, 1998). En la langosta *P. argus* la identificación de las isoenzimas con actividad lipasa estuvo limitada por las dificultades en revelar la actividad en geles de poliacrilamida. Por el contrario, se encontraron dos isoformas principales de amilasa, y una gran variedad de estererasas y proteasas (Perera *et al.*, 2008a), con tres isotripsinas principales. La composición de isoformas en cada individuo no varía con la muda y el desarrollo (Perera *et al.*, 2008b), y en el caso de las isotripsinas, presentan secuencias y estructuras tridimensionales similares (Perera *et al.*, 2010a).

De acuerdo a la combinación de isoformas, en el camarón *L. vannamei* se describieron tres fenotipos para las tripsinas mediante la utilización de sustrato-SDS-PAGE (Sainz *et al.*, 2004; 2005). En salmónidos, el uso de focalización isoeléctrica permitió la descripción de un mayor número de fenotipos (Torrissen, 1987). En el caso de las tripsinas de la langosta, se detectaron tres patrones electroforéticos (fenotipos) mediante sustrato-SDS-PAGE y se denominaron: A) presentan las tres isoformas principales, B) no presentan la isoenzima de mayor movilidad electroforética, y C) no presentan la isoenzima de movilidad media (Perera *et al.*, 2010b).

4. ISOENZIMAS Y EFICIENCIA DIGESTIVA

La eficiencia digestiva depende en primera instancia de la actividad enzimática en el tracto digestivo (actividad de las diferentes isoformas) y de la digestibilidad de la dieta. Aunque se ha sugerido que las diferencias entre isoformas de tripsina en *Daphnia* pueden dar lugar a diferencias en la eficiencia digestiva (Schwarzenberger *et al.*, 2010), este aspecto solo se ha estudiado con profundidad en salmónidos (Torrissen, 1987; Rungruangsak-Torrissen and Male, 2000), demostrándose diferencias en la eficiencia digestiva entre fenotipos de tripsina (Bassompierre *et al.* 1998). En *P. argus* este aspecto se estudió a tres niveles diferentes:

4.1. DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE FUENTES DE PROTEÍNA

La mayor liberación de aminoácidos se observó durante la digestión temprana de la harina de calamar, independientemente del fenotipo de tripsina, aunque la harina más digestible fue

la de machuelo (Perera *et al.*, 2010b). Las langostas que presentan las tres isoformas principales de tripsina (fenotipo A) mostraron ser las más eficientes, pues fueron las menos susceptibles a la variación en la calidad de la proteína de la dieta (Figura 1). El orden de eficiencia resultó A>C>B y los resultados indican que la acción coordinada entre las isoformas resulta en diferentes eficiencias digestivas (Perera *et al.*, 2010b).

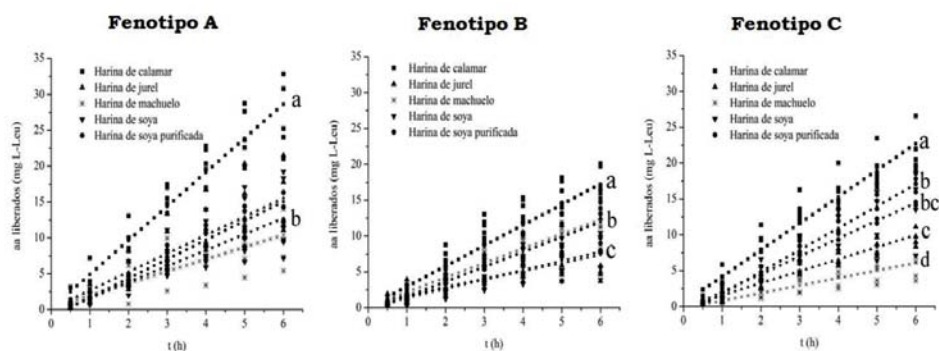


Figura 1.- Liberación de aminoácidos libres durante la digestión *in vitro* de diferentes fuentes de proteína por extractos de hepatopáncreas de langostas *P. argus* con los fenotipos de tripsina A, B y C (n=10). Las letras a la derecha de las líneas de regresión indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las pendientes.

4.2. CARACTERÍSTICAS CINÉTICAS

Las isoformas de tripsina fueron purificadas mediante filtración en gel e intercambio iónico. Las isoformas denominadas PaT1, PaT2 y PaT4 se corresponden con las isoenzimas que conforman los fenotipos A, B y C, siendo PaT4 la distintiva del fenotipo menos eficiente. Esta isoforma presentó la menor eficiencia catalítica (K_{cat}/K_m) (Tabla II) (Perera *et al.*, 2012a). Las constantes cinéticas usualmente brindan poca información sobre el funcionamiento de las enzimas *in vivo* debido a que las concentraciones *in vivo* de sustrato son aproximadamente de $0.1-1.0 K_m$ (Copeland, 2000). Sin embargo, las tripsinas digestivas funcionan *in vivo* a concentraciones altas de sustrato ($[S] \gg K_m$), por lo que la K_{cat} provee una buena aproximación a la eficiencia digestiva en condiciones fisiológicas. De esta manera, se demuestra que las diferencias en la eficiencia digestiva entre los diferentes fenotipos de tripsina están dadas por diferencias cinéticas entre las isoformas (Perera *et al.*, 2012a).

Tabla II.- Parámetros cinéticos de la hidrólisis del BApNA por las tripsinas de la langosta *P. argus*. Los valores son medias ± errores estándar (n=3). La baja eficiencia catalítica de PaT4 se muestra subrayada.

	K_m (mM)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ mM ⁻¹)
PaT1	0,12± 0,010	0,57±0,052	4,82
PaT2	0,12± 0,014	0,62±0,074	5,02
PaT3	0,11± 0,006	0,57±0,041	4,98
<u>PaT4</u>	0,08± 0,010	0,16±0,042	<u>2,02</u>
PaT5	0,19± 0,015	1,15±0,087	6,04

4.3. DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNAS NATIVAS

Las proteasas actúan sobre proteínas con muchos enlaces susceptibles a hidrólisis, cada uno con una cinética diferente, por lo que los resultados cinéticos se corroboraron mediante el uso de proteínas modelo (BSA y mioglobina). La hidrólisis de estas dos proteínas por la isoforma PaT4 resultó la más lenta (Figura 2) (Perera *et al.*, 2012a), lo cual se corresponde con su baja k_{cat}/K_m .

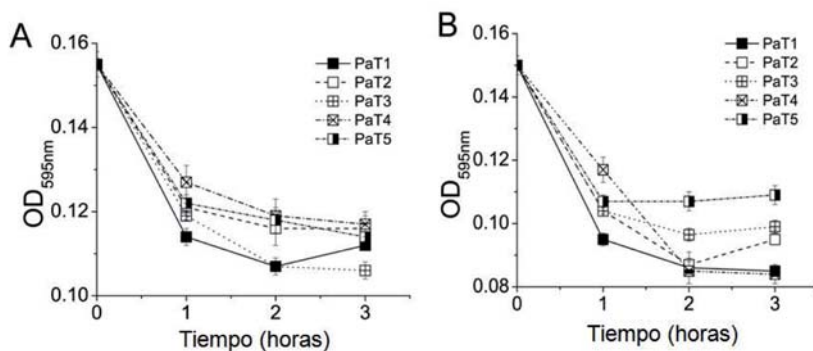


Figura 2.- Digestión de la albúmina de suero bovina (A) y la mioglobina (B) por las isoformas de tripsina purificadas de *P. argus*. Medias ± errores estándar (n=3). PaT1 mostró la capacidad hidrolítica mayor, mientras que la isoforma PaT4 resultó la menos eficiente digiriendo ambos sustratos proteicos.

5. EFECTO DEL ALIMENTO: REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD TRIPSINA

5.1. EFECTO DEL ALIMENTO ARTIFICIAL EN LA SECRECIÓN DE TRIPSINAS

La actividad tripsina en crustáceos está influenciada por la proteína de la dieta (Le Moullac *et al.*, 1996) aunque la regulación de este proceso ha sido poco estudiada. En los perros (Meyer and Kelly, 1976) y humanos (Thimister *et al.*, 1996) los aminoácidos y péptidos estimulan la secreción exocrina del páncreas, mientras que la secreción de tripsina es más estimulada por proteínas intactas en ratas (Green and Miyasaka, 1983), peces (Cahu *et al.*, 2004), insectos (Lehane *et al.*, 1995) y la langosta *P. argus*, según los resultados de la estimulación *in vitro* del hepatopáncreas de la langosta con proteínas intactas (BSA) o hidrolizados (Figura 3A) (Perera *et al.*, 2012b).

Aunque un estudio previo en otra especie de langosta (*J. edwardsii*) postula que no existen limitaciones en la secreción de tripsinas a la cámara gástrica tras la ingestión de piensos (Simon, 2009), en *P. argus* este proceso depende de la fuente de proteína. Las dietas cuyo componente proteínico mayoritario fue la harina de pescado o calamar indujeron la secreción de tripsinas, mientras que los basados en harina de soja no tuvo este efecto (Figura 3B) (Perera *et al.*, 2012b).

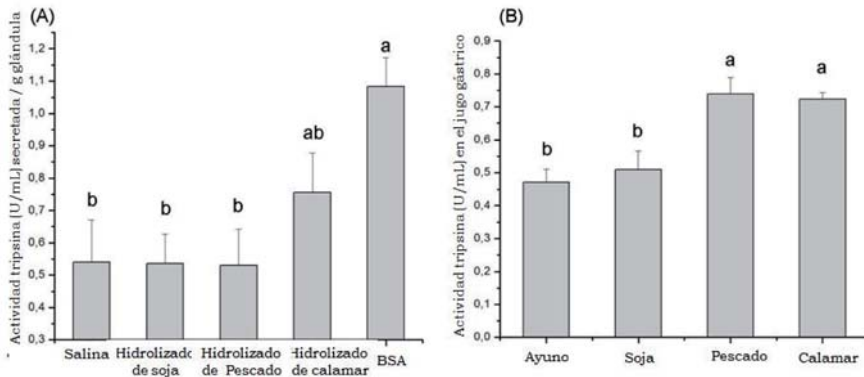


Figura 3.- (A) Efecto *in vitro* de hidrolizados de proteínas y una proteína nativa (BSA) sobre la secreción de tripsina del hepatopáncreas de la langosta *P. argus*. (B) Efecto *in vivo* de dietas con diferentes fuentes de proteína sobre la (secreción) actividad tripsina del jugo gástrico de la langosta *P. argus*.

5.2. EFECTO DEL ALIMENTO ARTIFICIAL EN LA EXPRESIÓN DE TRIPSINAS

Algunos hidrolizados (ej. calamar) estimulan más la expresión de tripsinas que las proteínas intactas (Figura 4A) (Perera *et al.*, 2012b). Además, la fuente de proteína regula las enzimas tipo tripsina a nivel transcripcional en la glándula digestiva, como ha sido descrito con anterioridad en camarones (Le Moullac *et al.* 1996), mosquitos (Noriega *et al.*, 1994) y ratas (Hara *et al.*, 2000). Las harinas de pescado y calamar en la dieta modularon positivamente la expresión génica de la isoforma de tripsina más abundante, mientras que las dietas con harina de soja como componente mayoritario no tuvieron efecto sobre la expresión (Figura 4B) (Perera *et al.*, 2012b).

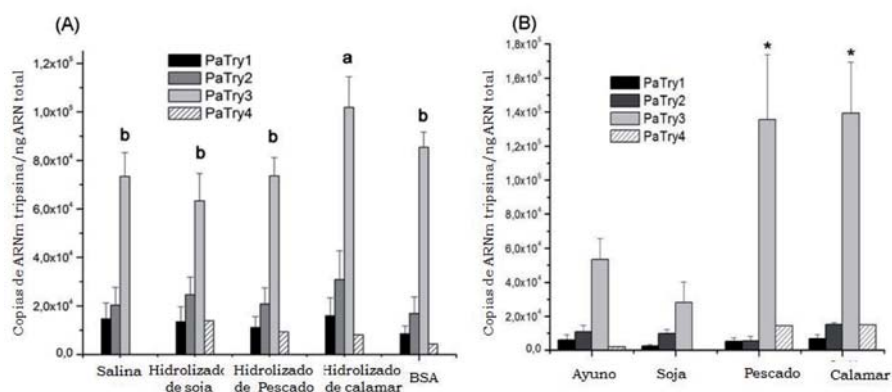


Figura 4.- (A) Efecto *in vitro* de hidrolizados de proteínas y una proteína nativa (BSA) sobre la expresión de isoformas de tripsina en el hepatopáncreas de *P. argus*. (B) Efecto *in vivo* de dietas con diferentes fuentes de proteína sobre la expresión de isoformas de tripsina en el hepatopáncreas de *P. argus*.

5.3. MODELO PARA LA REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD TRIPSINA

Los procesos de secreción y transcripción de tripsinas en *P. argus* estén afectados por dos tipos de señales que aparecen en el tracto digestivo de manera sucesiva, indicando que existe una cronología en la regulación de estas enzimas. Se propone que las proteínas del alimento disueltas en el jugo gástrico estimulan la secreción de tripsinas, mientras que los aminoácidos libres, una vez en la glándula digestiva, estimulan la expresión y síntesis de nuevas enzimas (Perera *et al.*, 2012b). La regulación coordinada de estos dos procesos pudiera ser más relevante que la regulación de cada uno de ellos por separado. Un estudio en la langosta *Jasus edwardsii*

mostró que, mientras las langostas alimentadas con mejillones presentan dos picos de secreción (4 y 18 h), las langostas que ingieren alimento peletizado no presentaron el segundo pico de secreción (Simon, 2009).

6. DIETAS ARTIFICIALES PARA LANGOSTAS ESPINOSAS: INCREMENTANDO LA EFICIENCIA DIGESTIVA

Durante mucho tiempo se consideró que los bajos crecimientos de langostas espinosas obtenidos con dietas formuladas se debían a bajas tasas de ingestión, relacionadas con la escasa atractibilidad o palatabilidad del alimento. Sin embargo, resultados obtenidos posteriormente parecen concluir que la ingestión en langostas espinosas está limitada por una baja capacidad gástrica (2.5-3% de la biomasa húmeda), baja tasa de llenado (1-2 h) y vaciamiento (10 h) gástrico, así como por el largo tiempo necesario para que las langostas recobren el apetito (18-48 h) (Simon and Jeffs, 2008). Como consecuencia, la única manera de mejorar las tasas de crecimiento es mediante la optimización de la ración diaria, especialmente del componente proteico de la misma. Las mayores actividades tripsina y quimotripsina se localizan en el jugo gástrico de *P. argus*, por lo que cualquier esfuerzo por incrementar la eficiencia digestiva en la langosta debe comenzar por optimizar la digestión gástrica. Los resultados del presente trabajo sugieren que estudios futuros deben enfocarse en:

- ❖ Mejorar la digestibilidad de las proteínas de la dieta: selección de la fuente, proceso de fabricación de la harina, tamaño de partícula, etc.
- ❖ Mejorar la solubilidad de las proteínas de la dieta: utilización de fuentes de proteínas con fracciones altamente solubles sin llegar a comprometer la estabilidad del alimento, incorporar como aditivo alguna proteína soluble como iniciadora del proceso de secreción.
- ❖ Garantizar la síntesis de nuevas enzimas: uso de proteínas altamente digeribles, bajas inclusiones de hidrolizados o de harina de calamar.

Adicionalmente, las diferencias encontradas entre fenotipos de tripsina sugieren que una vez que la tecnología para la producción masiva de semilla esté disponible, es posible llevar a cabo la selección de los fenotipos más eficientes en la digestión proteica, o los que mejor toleren las fuentes alternativas de proteína en las dietas artificiales.

7. CONCLUSIONES

- ❖ La langosta *P. argus* presenta una amplia batería de enzimas digestivas con un alto grado de polimorfismo.
- ❖ La eficiencia de los diferentes fenotipos de tripsina está dada por las características cinéticas de las isoformas.
- ❖ La secreción y expresión de tripsinas en la langosta son procesos regulados por las características del alimento y los productos de la digestión.
- ❖ Se deben realizar estudios encaminados a incrementar la eficiencia en la digestión gástrica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los Proyectos de la International Foundation for Science (IFS) No.A/4306-1 (2008-2010) y No.A/4306-2 (2011-2012), y gracias a las siguientes ayudas concedidas a E. Perera: Beca de Movilidad de la Red de Nutrición en Acuicultura del CYTED (2007), Beca doctoral de la AUIP en el marco del programa Doctorado Iberoamericano en Ciencias de la Universidad de Cádiz (2008), y Beca de apoyo de la Universidad de Cádiz a la investigación para la finalización de Tesis Doctorales (2012).

BIBLIOGRAFÍA

- Barnard R. M., Johnston M. D., Phillips B. 2011. Exciting developments: Generation F2 of the tropical *Panulirus ornatus*. *AQUA Culture Asia Pacific Magazine*, 7(1): 37-38.
- Bassompierre M., Ostefeld T.H., McLean E., Rungruangsak Torrissen, K. 1998. *In vitro* protein digestion and growth of Atlantic salmon with different trypsin isozymes. *Aquacult. Internat.* 6: 47-56.
- Cahu C. L., Rønnestad I., Grangiera V., Zambonino-Infante J. L. 2004. Expression and activities of pancreatic enzymes in developing sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in relation to intact and hydrolyzed dietary protein; involvement of cholecystokinin.

Aquaculture 238: 295-308.

- Carrillo-Farnés O., Forrellat-Barrios A., Guerrero-Galván S., Vega-Villasante F. 2007. A review of digestive enzyme activity in penaeid shrimps. *Crustaceana*, 80(3): 257-275.
- Celis-Gerrero L.E., García-Carreño F.L., Navarrete del Toro M.A. 2004. Characterization of proteases in the digestive system of spiny lobster (*Panulirus interruptus*). *Mar. Biotechnol.* 6: 262–269.
- Copeland R. A. 2000. Kinetics of single-substrate enzyme reactions (chapter 5). Pp 109-145 in *Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis*. Robert A. Copeland, 2nd edition, Wiley-VCH, Inc. New York, NY.
- Galgani F., Nagayama F. 1987. Digestive proteinases in the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 87 B: 889–893.
- Green G. M., Miyasaka K. 1983. Rat pancreatic response to intestinal infusion of intact and hydrolyzed protein. *Am. J. Physiol.* 245: G394–G398.
- Hara H., Hashimoto N., Akatsuka N., Kasai T. 2000. Induction of pancreatic trypsin by dietary amino acids in rats: Four trypsinogen isozymes and cholecystokinin messenger RNA. *J. Nutr. Biochem.* 11: 52–59.
- Jeffs A., Davis M. 2003. An assessment of the aquaculture potential of the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Proceedings Gulf Caribb. Fish. Institute*, 54: 413–426.
- Johnston D.J. 2003. Ontogenetic changes in digestive enzyme activity of the spiny lobster, *Jasus edwardsii* (Decapoda; Palinuridae). *Mar. Biol.* 143: 1071–1082.
- Klein B., Sellos D., Van Wormhoudt A. 1998. Genomic organization and polymorphism of a Crustacean trypsin multi-gene family. *Gene* 216: 123–129.
- Le Moullac G., Klein B., Sellos D., van Wormhoudt, A. 1996. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 208: 107–125.
- Lehane M. J., Blakemore D., Williams S., Moffatt M. R. 1995. Regulation of digestive enzyme levels in insects. *Comp. Biochem. Physiol.* 110B (2): 285-289.
- Meyer J. H., Kelly G. A. 1976. Canine pancreatic responses to intestinally perfused proteins and protein digests. *Am. J. Physiol.* 231: 682-691.
- Nguyen V. L., Long V., Hoc D. T. 2009. Census of lobster seed captured from the central coastal waters of Vietnam for aquaculture grow-out, 2005–2008. En: Williams K.C. (ed.) 2009. *Spiny lobster aquaculture in the Asia-Pacific region*. Proceedings of an international symposium held at Nha Trang, Vietnam, 9–10 December 2008. ACIAR Proceedings No. 132. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 162 pp.

- Noriega F. G., Barillas-Mury C. V., Wells M. A. 1994. Dietary control of late-trypsin gene transcription in *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24: 627–631.
- Perera E., Díaz-Iglesias E., Fraga I., Carrillo O., Galich G. 2007. Effect of body weight, temperature and feeding on the metabolic rate in the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804). *Aquaculture* 265: 261–270.
- Perera E., Fraga I., Carrillo O., Díaz-Iglesias E., Cruz R., Báez M., Galich G. 2005. Evaluation of practical diets for the Caribbean spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804): effects of protein sources on substrate metabolism and digestive proteases. *Aquaculture* 244: 251- 262.
- Perera E., Rodríguez-Casariago J., Rodríguez-Viera L., Calero J., Perdomo-Morales R., Mancera J. M. 2012a. Lobster (*Panulirus argus*) hepatopancreatic trypsin isoforms and their digestion efficiency. *Biol Bull* 222: 158-170.
- Perera E., Rodríguez-Viera J., Rodríguez-Casariago I., Fraga O., Carrillo L., Martínez-Rodríguez G., Mancera J. M. 2012b. Dietary protein quality differentially regulates trypsin enzymes at the secretion and transcription levels in the lobster (*Panulirus argus*) by distinct signaling pathways. *J Exp Biol* 215: 853-862.
- Perera E., Pons T., Hernández D., Moyano F.J., Martínez-Rodríguez. G., Mancera J.M. 2010a. New members of the brachyurins family in lobster include a trypsin-like enzyme with amino acid substitutions in the substrate-binding pocket. *FEBS Journal* 277: 3489–3501.
- Perera E., Moyano F. J., Rodríguez-Viera L., Cervantes A., Martínez-Rodríguez G., Mancera J. M. 2010b. *In vitro* digestion of protein sources by crude enzyme extracts of the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804) hepatopancreas with different trypsin isoenzyme patterns. *Aquaculture* 310: 178-185.
- Perera E., Moyano F. J., Díaz M., Perdomo-Morales R., Montero V., Alonso E., Carrillo O., Galich G. 2008a. Polymorphism and partial characterization of digestive enzymes in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 150B: 247–254.
- Perera E., Moyano F. J., Díaz M., Perdomo-Morales R., Montero V., Rodríguez-Viera L., Alonso E., Carrillo O., Galich G. 2008b. Changes in digestive enzymes through developmental and molt stages in the spiny lobster, *Panulirus argus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 151B: 250-256.
- Phillips B. F., Melville-Smith R. 2006. *Panulirus* Species (Chapter 11). En: *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. Phillips, B.F. (Ed). Blackwell Publishing Ltd, Australia, 359-384pp.
- Rungruangsak-Torrissen K., Male R. 2000. Trypsin isozymes: Development, digestion and structure. En: *Seafood Enzymes, utilization and influence on post-harvest seafood*

- quality*. pp. 215–269. Edited by N.F. Haard and B.K. Simpson. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Sainz J.C., García-Carreño F., Córdova-Murueta J., Cruz-Hernández P. 2005. *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) isotrypsins, genotype and modulation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 326: 105–113.
- Sainz J.C., García-Carreño F.L., Hernández-Cortés P. 2004. *Penaeus vannamei* isotrypsins: purification and characterization. *Comp. Biochem. Physiol.* 138B: 155–162.
- Schwarzenberger A., Zitt A., Kroth P., Mueller S., Von Elert E. 2010. Gene expression and activity of digestive proteases in *Daphnia*: effects of cyanobacterial protease inhibitors. *BMC Physiology* 10:6.
- Simon C. J., Jeffs A., 2008. Feeding and gut evacuation of cultured juvenile spiny lobsters, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture* 280: 211–219.
- Simon C.J. 2009. Digestive enzyme response to natural and formulated diets in cultured juvenile spiny lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture* 294: 271–281.
- Thimister P.W.L., Hopman W.P.M., Sloots C.E.J., Rosenbusch G., Willems H.L., Trijbels F.J.M., Jansen, J.B.M.J. 1996. Role of intraduodenal proteases in plasma cholecystokinin and pancreaticobiliary responses to protein and amino acids. *Gastroenterology* 110: 567-575.
- Torrissen K.R. 1987. Genetic variation of trypsin-like isozymes correlated to fish size of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 62: 1–10.
- Williams K.C. 2007. Nutritional requirements and feeds development for post-larval spiny lobster: a review. *Aquaculture* 263: 1–14.

Eficiencia digestiva en la langosta *Panulirus argus*: enzimas digestivas y dietas artificiales

Perera, E.¹, Moyano, F. J.², Martínez-Rodríguez, G.³, Mancera, J. M.⁴

1. Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de la Habana, Cuba; 2. Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería, España; 3. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, CSIC, Cádiz, España; 4. Departamento de Biología, Universidad de Cádiz, España
*erickpb@icim.uh.cu; erickpb@icim@yahoo.es

Introducción

Las langostas espinosas son carnívoras durante todo su ciclo de vida. A pesar de que se ha avanzado significativamente en la comprensión de los requerimientos nutricionales de langostas espinosas (William, 2007), se continúa careciendo de dietas formuladas apropiadas para el cultivo estas especies. Mientras que las características generales de la digestión en langostas espinosas son similares a la mayoría de los decápodos estudiados, existen lagunas en el conocimiento de la bioquímica y fisiología digestiva de las diferentes especies.

Objetivo:

Estudiar las enzimas digestivas de *P. argus*, así como el valor adaptativo de la presencia de múltiples tripsinas y sus mecanismos de regulación.

Resultados y Discusión

P. argus posee una amplia variedad de enzimas digestivas (Tabla 1) y un gran número de isoformas para cada una de ellas (Fig. 3A,B,C). La proteólisis recae en las metalo-proteasas, y en la tripsina y quimotripsina, con predominio de la actividad tripsina (Tabla 1). Se observaron tres fenotipos principales de tripsina (Fig. 1D).

Tabla 1. Condiciones óptimas de temperatura, pH y fuerza iónica de las principales enzimas digestivas de la langosta *Panulirus argus* (n=10), y distribución de las actividades (A₆₀ min⁻¹ mg proteína⁻¹) en el tracto digestivo. Las actividades se midieron al pH óptimo de cada enzima. Los sustratos utilizados fueron: caseína para proteasas totales, N-benzoyl-DL-arginina-p-nitroanilina (BAPNA) para tripsina, Suc-Ala-Ala-Phe-p-nitroanilina (SAPNA) para quimotripsina, p-nitroanil butirato (p-NPB) para esterasa, 5-naftil caprilato para lipasa, y almidón para amilasa.

Actividad enzimática	Temp. óptima (°C)	pH óptimo	Fuerza Iónica óptima (mM NaCl)	Jugo gástrico	Glandulae digestiva
Proteasas	60	7	no ensayada	no ensayada	no ensayada
Tripsina	60	7 and 10-12	100-200	20.9 ± 4.462	1.32 ± 0.422
Quimotripsina	50	7 and 11	no se afecta	8.56 ± 0.564	0.28 ± 0.078
Esterasa	40-50	7, 9 and 11	200-500	1.76 ± 0.320	20.60 ± 6.305
Lipasa	40	7-9	20	0.07 ± 0.011	4.25 ± 2.732
Amilasa	50	4-5	20-100	33.38 ± 8.537	10.64 ± 4.330

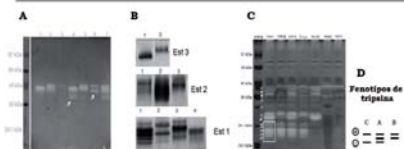


Fig. 1. Isoformas de las principales enzimas digestivas de la langosta *P. argus* (n=40) en gels de poliacrilamida. (A) amilasas en SDS-PAGE 12%, (B) esterasas en PAGE-Nativo 8%, y (C) proteasas en SDS-PAGE 13%. En el Panel (C) se muestra en efecto de inhibidores de quimotripsina (TPCK, ZPCK and Quimotratril), tripsina (TLCK) y serino proteasas (PMSP y SBTI) sobre la actividad proteolítica. Según el efecto de estos inhibidores las proteasas observadas fueron clasificadas como: serino proteasas (-), quimotripsinas (+), tripsinas (+) y proteasas no clasificadas (-). Las tripsinas se señalan además con un rectángulo blanco en el panel (C). En la figura se muestran además los fenotipos observados para cada enzima. En el panel (A) los principales fenotipos de amilasa se muestran en los carriles 1, 2 y 3, mientras que en el panel (B) los principales fenotipos de esterasas se muestran en el carril 1. Los principales fenotipos de tripsina se muestran en el panel (D). Las langostas con las tres isoformas principales fueron denominadas como **fenotipo A**, los individuos que no presentan la isoforma de mayor movilidad electroforética como **fenotipo B**, y los que no presentan la isoforma de movilidad electroforética media fueron nombrados como **fenotipo C**.

Conclusiones

- ✓ La langosta *P. argus* presenta una amplia batería de enzimas digestivas con un alto grado de polimorfismo.
- ✓ La eficiencia de los diferentes fenotipos de tripsina está dada por las características cinéticas de las isoformas.
- ✓ La secreción y expresión de tripsinas en la langosta son procesos cronológicamente regulados por las características del alimento y los productos de la digestión.

Referencias bibliográficas:

Saiz, J.C., García-Carreño, F.L., Hernández-Cortés, P. 2004. Panulirus vannamei (tripsina): purification and characterization. Comp. Biochem. Physiol. B 138, 155-162.
William, K.C. 2007. Nutritional requirements and feeds development for post-larval spiny lobster: a review. Aquaculture 263, 1-14.

Las langostas que presentan las tres isoformas principales de tripsina mostraron ser las más eficientes (F₂ 2), siendo las menos susceptibles a la variación de la proteína de la dieta. Los fenotipos conformados por dos isoformas solamente también difirieron en eficiencia (Fig. 2), lo cual indica que la acción coordinada entre las isoformas resulta en diferentes eficiencias digestivas. El orden de eficiencia fue A>C>B, siendo la isoforma de movilidad electroforética media (PaT4) la distintiva del fenotipo menos eficiente. Coincidentemente, esta isoforma presentó la menor K_{cat} y la menor eficiencia catalítica (K_{cat}/K_m) (Tabla 2) y fue la menos eficiente digiriendo sustratos proteicos nativos (Fig. 3). La isotripsina de movilidad media en el camarón *L. vannamei* también fue la menos eficiente (Saiz et al., 2004).

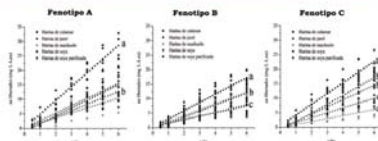


Fig. 2. Liberación de aminoácidos libres durante la digestión *in vitro* de diferentes fuentes de proteína por extractos de hepatopáncreas de langostas *Panulirus argus* con los fenotipos de tripsina A, B y C (n=10 para cada fenotipo). Los puntos experimentales y las líneas de regresión para cada fuente de proteína se representan con los mismos símbolos. Las letras a la derecha de las líneas de regresión indican diferencias significativas (p<0.05) entre las pendientes.

Tabla 2. Parámetros cinéticos de la hidrólisis del BAPNA por las tripsinas purificadas de *P. argus*. La baja eficiencia catalítica de la isoforma PaT4 se señala con una flecha.

	K _m (mM)	k _{cat} (s ⁻¹)	k _{cat} /K _m (s ⁻¹ mM ⁻¹)
PaT1	0.12 ± 0.010	0.57 ± 0.052	4.82
PaT2	0.12 ± 0.014	0.82 ± 0.074	5.02
PaT3	0.11 ± 0.005	0.57 ± 0.041	4.98
PaT4	0.08 ± 0.010	0.16 ± 0.042	2.02
PaT5	0.19 ± 0.015	1.15 ± 0.087	6.04

Fig. 3 (arriba, derecha). Digestión de la albúmina de suero bovino (BSA) por las isoformas de tripsina purificadas de *P. argus*. La isoforma PaT1 mostró la capacidad hidrolítica mayor, mientras que la isoforma PaT4 resultó la menos eficiente. La baja capacidad de hidrólisis de la isoforma PaT4 se señala con una flecha.

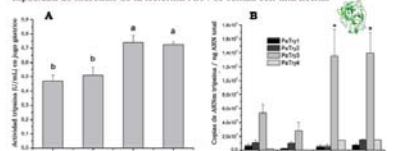


Fig. 3 (abajo, izquierda). Efecto *in vivo* de dietas con diferentes fuentes de proteína sobre la actividad tripsina del jugo gástrico (secreción) (A) y expresión (B) de las principales isoformas de tripsina en el hepatopáncreas de la langosta *P. argus*.

Las dietas basadas en harina de pescado o calamar indujeron la secreción de tripsinas (Fig. 4A), y la expresión de la isoforma más abundante (Fig. 4B). Otros resultados (*in vitro*) indican que estos procesos están mediados por proteínas intactas y aminoácidos libres, respectivamente.

El consumo de erizo de mar en Andalucía: preferencias y hábitos territoriales

Álvarez¹ P., Fernández¹ M., Hidalgo² F., Norman³ C.

¹Agencia de Gestión Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. C/ Bergantín 39. 41012 Sevilla, España.

²Dpto. de Zoología. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. 18071 Granada, España.

³Servicio de Desarrollo Pesquero y Acuícola. Delegación Territorial de Granada. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 18071 Granada, España.

pedroa.alvarez@juntadeandalucia.es

RESUMEN

El erizo de mar común *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816), es una especie comestible con gran potencial como recurso pesquero y acuícola siendo, localmente, muy apreciada en ciertas partes de Andalucía.

La pesquería del erizo de mar común se ha incrementado notablemente en las últimas décadas en Andalucía, lo que puede suponer un peligro para sus poblaciones naturales si no se efectúa una adecuada gestión. Para ello, es necesario prever cuales serán las necesidades temporales y espaciales que se generarán por la demanda de los consumidores, de modo que se facilite la sincronización entre la extracción pesquera y las exigencias del mercado así como la cuantificación de las posibles necesidades de producción acuícola del recurso.

Para conocer la demanda del producto existente entre la población andaluza se realizaron encuestas a consumidores en las distintas provincias costeras y en Sevilla, buscando conocer su perfil (sexo, edad, nivel de ingresos y formación del encuestado) y sus preferencias de consumo. También se realizaron encuestas, a pie de calle durante la fiesta de la *erizada* de

2011, en Cádiz, donde el personal encuestado había consumido o se encontraba consumiendo erizo de mar en ese mismo momento.

Nuestros resultados indican que el hábito de consumo y de compra del erizo de mar en Andalucía es escaso, en general, estando mucho más arraigado en la provincia de Cádiz (sobre todo en fresco) que en el resto de Andalucía y más en la Andalucía Occidental que en la Oriental, donde el producto es poco conocido aunque, no obstante, suele ser muy apreciado por aquellos que lo prueban. La tradición y la promoción del erizo en eventos anuales como la erizada en los carnavales de Cádiz, hace que la población de esta provincia consuma, conozca y aprecie el sabor del erizo consumido, sobre todo, en fresco. Sin embargo, en las provincias orientales el desconocimiento de este equinodermo es muy acusado.

INTRODUCCIÓN

El erizo de mar común (*Paracentrotus lividus* Lamarck 1816), es una especie comestible con gran potencial como recurso pesquero y acuícola siendo, localmente, muy apreciada en ciertas partes de Andalucía como es la zona suratlántica.

La pesquería del erizo de mar común se ha incrementado notablemente en las últimas décadas en Andalucía, lo que puede suponer un peligro para sus poblaciones naturales si no se efectúa una adecuada gestión. Para ello, es necesario prever cuales serán las necesidades temporales y espaciales que se generarán por la demanda de los consumidores, de modo que se facilite la sincronización entre la extracción pesquera y las exigencias del mercado así como la cuantificación de las posibles necesidades de producción acuícola del recurso.

Para ello y con el fin de obtener información sobre la demanda del producto existente entre la población andaluza se realizaron encuestas a consumidores en las distintas provincias costeras y en Sevilla, buscando conocer el perfil del consumidor (sexo, edad, nivel de ingresos y formación del encuestado) y sus preferencias de consumo (tipo y frecuencia de consumo o la valoración del sabor). Además, también se realizaron encuestas, a pie de calle durante la fiesta de la *erizada* de 2011, en Cádiz, donde el personal encuestado había consumido o se encontraba consumiendo erizo de mar en ese mismo momento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron un total de 212 encuestas a consumidores en las provincias de Huelva, Cádiz, Sevilla, Málaga, Granada y Almería. Adicionalmente, se realizaron 100 encuestas a pie de calle el día de la erizada de Carnaval 2011, por las calles y lugares de Cádiz donde se celebraba esta fiesta y donde el personal encuestado había consumido o se encontraba consumiendo erizo de mar en ese mismo momento. En ellas se recogieron datos como el sexo y procedencia del encuestado, frecuencia de consumo, lugar de compra habitual y valoración del sabor (Tabla I).

RESULTADOS

La tabla I presenta la información que arrojan las encuestas realizadas en las provincias de Huelva, Cádiz, Sevilla, Málaga, Granada y Almería.

Tabla I.- Resultados de las encuestas a los consumidores en las distintas provincias de Andalucía.

Provincias		Almería	Cádiz	Granada	Huelva	Malaga	Sevilla
Frecuencia consumo	No	12	27	47	12	11	4
	Ocasionalmente	3	33	10	3	2	14
	Erizada	0	12	2	3	6	10
	Con frecuencia	0	8	7	3	0	2
Valoración sabor	Muy bueno	2	26	10	1	1	8
	Bueno	0	15	7	0	3	8
	Regular	1	8	1	1	3	8
Compra erizo	Malo	0	4	0	1	1	3
	Sí	0	21	3	0	1	5
	No	3	34	15	0	2	24
Edad	< 30 años	2	6	4	1	2	1
	Entre 30 – 50	11	59	51	13	17	28
	>50 años	1	8	9	0	0	0
Sexo	Hombre	4	54	12	10	9	15
	Mujer	11	26	54	5	10	15
Estudios	Sin estudios	0	4	19	0	1	0
	Primarios	0	2	7	0	1	0
	Secundarios	1	39	20	4	4	1
	Universitarios	14	33	19	11	12	29

Para simplificar la exposición de los resultados se han agrupado regionalmente los datos obtenidos para comparar la Andalucía Oriental con la Occidental (Fig. 1 y 2).



Figura 1.- Frecuencia de consumo y valoración del sabor en Andalucía Oriental.

En Andalucía Oriental sólo el 30 % de los encuestados ha probado el erizo y sólo el 7 % lo consume de forma frecuente. No obstante el 80 % de los que han probado el producto consideran que está bueno o muy bueno.

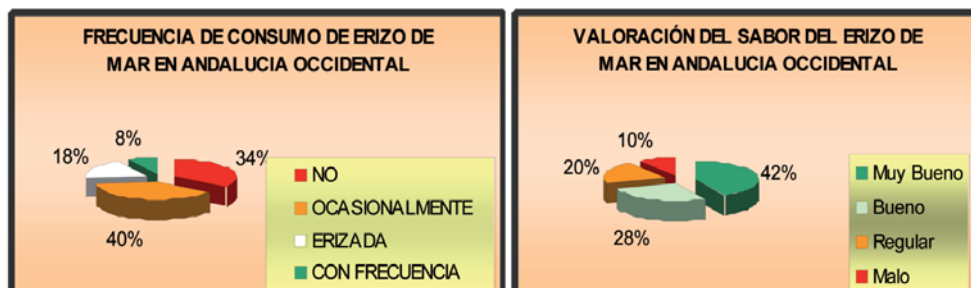


Figura 2.- Frecuencia de consumo y valoración del sabor en Andalucía Occidental.

En Andalucía Occidental el 66 % de los encuestados han probado el erizo aunque solo un 8 % lo consume con frecuencia. El 70 % de los que han probado el producto valora el sabor como bueno o muy bueno.

Los resultados de las encuestas realizadas en la erizada de Carnaval de 2011, en Cádiz, se muestran en las figuras 3 y 4. Según éstos, el 66 % de los encuestados compra erizo de mar alguna vez a lo largo del año pero el 70 % de ellos solo lo hacen en eventos de carácter festivo como la erizada de Carnaval.

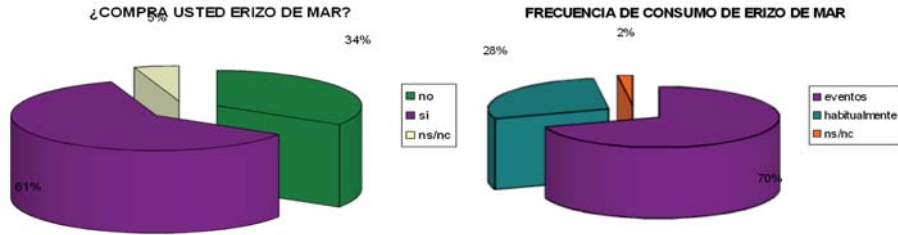


Figura 3.- Frecuencia de consumo de erizo de mar.

Un 59% de los encuestados calificó el sabor del erizo como “muy bueno” y un 20% como “bueno”. Sólo un 7% dijo encontrarlo “malo”. Un 41% de los encuestados eran mujeres. La formación académica del encuestado era, según su declaración, mayoritariamente, media o superior. El 65% de los asistentes procedían de otras provincias distintas de la de Cádiz.

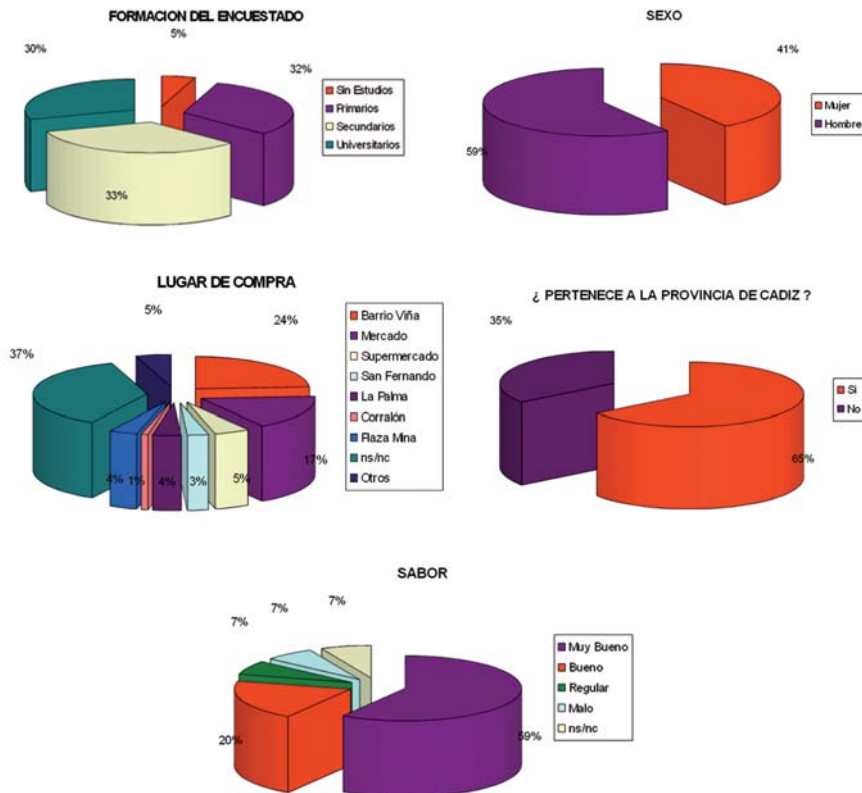


Figura 4.- Resultados de la encuesta.

El erizo que se comercializa y consume en Andalucía es el *Paracentrotus lividus*. Los recolectores de erizo comercializan el producto por venta directa y el consumo suele ser en fresco y muy localizado geográficamente en zona suratlántica (provincia de Cádiz).

El erizo de mar fresco tiene una alta aceptación por el consumidor en eventos festivos como las erizadas de Carnaval de la provincia de Cádiz (Fig. 4), pero este consumo es de carácter puntual (Tabla I, Fig. 3) y no continuado a lo largo del año, debido a la alta estacionalidad de la disponibilidad del producto. Dicha estacionalidad, podría ser corregida mediante el cultivo de la especie que permitiría la obtención de ejemplares para su consumo de manera más continuada.

La influencia gaditana se deja sentir en la Andalucía Occidental, donde el producto es conocido y apreciado (Fig. 2). Por el contrario, en la Andalucía Oriental el producto es prácticamente desconocido (es difícil de encontrar en los establecimientos), pero suele ser muy apreciado (tanto o más que en la Andalucía Occidental) por quienes tienen la oportunidad de probarlo (Fig. 1).

Todo ello sugiere la existencia, en Andalucía, de un mercado potencial para el desarrollo de la producción acuícola del erizo, lo que permitiría una disponibilidad más continuada y abundante del recurso en las zonas de consumo habitual y haría interesante una promoción del producto en los territorios de escasa demanda.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Peña del erizo de Cádiz, el día de la erizada de Carnaval, por su colaboración y asesoramiento.

Este estudio se ha realizado dentro del proyecto “Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*)” de JACUMAR (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) con la participación de la Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente de la Junta de Andalucía a través de su Agencia de Gestión Agraria y Pesquera.

El erizo de mar en Andalucía: preferencias y hábitos territoriales de consumo.

Pedro Álvarez¹, Marina Fernández¹, Félix Hidalgo² y Carlos Norman³

¹Agencia de Gestión Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. España.

²Dpto. de Zoología. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. España.

³Servicio de Desarrollo Pesquero y Acuícola. Delegación de Granada. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. España.

E-mail: pedro.alvarez@juntadeandalucia.es



INTRODUCCIÓN

El erizo de mar común (*Paracentrotus lividus* Lamarck 1816), es una especie comestible con gran potencial como recurso pesquero y acuícola siendo, localmente, muy apreciada en ciertas partes de Andalucía como es la zona suratlántica.

La pesca del erizo de mar común se ha incrementado notablemente en las últimas décadas en Andalucía, lo que puede suponer un peligro para sus poblaciones naturales si no se efectúa una adecuada gestión. Para ello, es necesario prever cuáles serán las necesidades temporales y espaciales que se generarán por la demanda de los consumidores, de modo que se facilite la sincronización entre la extracción pesquera y las exigencias del mercado así como la cuantificación de las posibles necesidades de producción acuícola del recurso.

Para ello y con el fin de obtener información sobre la demanda del producto existente entre la población andaluza se realizaron encuestas a consumidores en las distintas provincias costeras y en Sevilla, buscando conocer el perfil del consumidor (sexo, edad, nivel de ingresos y formación del encuestado) y sus preferencias de consumo (tipo y frecuencia de consumo o la valoración del sabor). Además, también se realizaron encuestas, a pie de calle durante la fiesta de la erizada de 2011, en Cádiz, donde el personal encuestado había consumido o se encontraba consumiendo erizo de mar en ese mismo momento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron un total de 212 encuestas a consumidores en las provincias de Huelva, Cádiz, Sevilla, Málaga, Granada y Almería. Adicionalmente, se realizaron 100 encuestas a pie de calle el día de la erizada de Carnaval 2011, por las calles y lugares de Cádiz donde se celebra esta fiesta y donde el personal encuestado había consumido o se encontraba consumiendo erizo de mar en ese mismo momento. En ellas se recogieron datos como el sexo y procedencia del encuestado, frecuencia de consumo, lugar de compra habitual y valoración del sabor (Tabla 1).



RESULTADOS

La Tabla 1 presenta la información que arrojan las encuestas realizadas en las provincias de Huelva, Cádiz, Sevilla, Málaga, Granada y Almería.

ENCUESTADOS Y ENCUESTADOS		ENCUESTADOS EN LA ERIZADA DE CARNAVAL DE CÁDIZ 2011	
PROVINCIA	SEXO	EDAD	VALORACIÓN DEL SABOR
ANDALUCÍA	50%	45%	66%
ALMERÍA	50%	45%	66%
CÁDIZ	50%	45%	66%
GRANADA	50%	45%	66%
HUELVA	50%	45%	66%
MÁLAGA	50%	45%	66%
SEVILLA	50%	45%	66%

Tabla 1.- Resultados de las encuestas a los consumidores en las distintas provincias de Andalucía



Sólo el 20 % de los encuestados ha probado el erizo y sólo el 7 % lo consume de forma frecuente. No obstante el 80 % de los que han probado el producto consideran que está bueno o muy bueno.

Figura 1.- Frecuencia de consumo y valoración del sabor en Andalucía Oriental

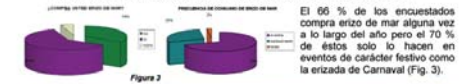


El 66 % de los encuestados han probado el erizo aunque sólo un 8 % lo consume con frecuencia. El 75 % de los que han probado el producto valora el sabor como bueno o muy bueno.

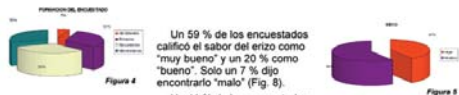
Figura 2.- Frecuencia de consumo y valoración del sabor en Andalucía Occidental

RESULTADOS

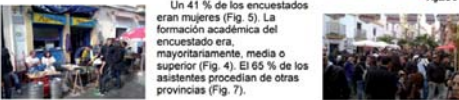
Encuestas realizadas en la erizada de Carnaval de Cádiz 2011



El 66 % de los encuestados compra erizo de mar alguna vez a lo largo del año pero el 70 % de éstos solo lo hacen en eventos de carácter festivo como la erizada de Carnaval (Fig. 3).



Un 59 % de los encuestados calificó el sabor del erizo como "muy bueno" y un 20 % como "bueno". Sólo un 7 % dijo encontrarlo "malo" (Fig. 8).



Un 41 % de los encuestados eran mujeres (Fig. 5). La formación académica del encuestado era, mayoritariamente, media o superior (Fig. 4). El 65 % de los asistentes procedían de otras provincias (Fig. 7).



DISCUSIÓN

El erizo que se comercializa y consume en Andalucía es el *Paracentrotus lividus*. Los recolectores de erizo comercializan el producto por venta directa y el consumo suele ser en fresco y muy localizado geográficamente en zona suratlántica (provincia de Cádiz).

El erizo de mar fresco tiene una alta aceptación por el consumidor en eventos festivos como las erizadas de Carnaval de la provincia de Cádiz (Fig. 3) pero este consumo es de carácter puntual (Tabla 1, Fig. 3) y no continuado a lo largo del año, debido a la alta estacionalidad de la disponibilidad del producto. Dicha estacionalidad, podría ser corregida mediante el cultivo de la especie que permitiría la obtención de ejemplares para su consumo de manera más continuada.

La influencia gaditana se deja sentir en la Andalucía Occidental, donde el producto es conocido y apreciado (Fig. 2). Por el contrario, en la Andalucía Oriental el producto es prácticamente desconocido (es difícil de encontrar en los establecimientos) pero suele ser muy apreciado (tanto o más que en la Andalucía Occidental) por quienes tienen la oportunidad de probarlo (Fig. 1).

Todo ello sugiere la existencia, en Andalucía, de un mercado potencial para el desarrollo de la producción acuícola del erizo, lo que permitiría una disponibilidad más continuada y abundante del recurso en las zonas de consumo habitual y haría interesante una promoción del producto en los territorios de escasa demanda.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Peña del erizo de Cádiz, el día de la erizada de Carnaval, por su colaboración y asesoramiento. Este estudio se ha realizado dentro del proyecto "Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*)" de JACUMAR (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) con la participación de la Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente de la Junta de Andalucía a través de su Agencia de Gestión Agraria y Pesquera.

El cultivo del erizo de mar común, *Paracentrotus lividus*: piensos de finalización, sexo y calidad comercial del color gonadal

Álvarez¹ P., Hidalgo² F., Norman³ C.

¹Agencia de Gestión Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. C/ Bergantín 39. 41012 Sevilla, España.

²Dpto. de Zoología. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. 18071 Granada, España.

³Servicio de Desarrollo Pesquero y Acuícola. Delegación Territorial de Granada. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 18071 Granada, España.

pedroa.alvarez@juntadeandalucia.es

RESUMEN

El erizo de mar común, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), es un equinoideo con gran potencial como recurso pesquero y acuícola debido al interés comercial de su gónada que es comestible y se considera una *delicatessen*. Por eso, además del tamaño de la gónada producida, importa sobre todo la calidad, que es la que determina su valor comercial. El color de la gónada es uno de los factores que más influyen sobre esta calidad.

El uso de piensos artificiales de finalización produce una mejora sustancial del tamaño de la gónada incluso en aquellas épocas del año de índices gonadales naturales más bajos. El objetivo de nuestro estudio ha sido evaluar la eficacia de la suplementación con carotenoides de este tipo de alimentos para la mejora de la calidad comercial del color gonadal en relación con el sexo del animal.

Nuestro estudio muestra que la calidad comercial de la coloración gonadal, clasificada en las categorías de “excelente”, “aceptable” e “inaceptable”, se ve significativamente mejorada

por la suplementación del pienso artificial de finalización con carotenoides tales como la astaxantina o la capsantina y que esta calidad está significativamente influenciada por el sexo del individuo, siendo mejor la coloración de las hembras. Así, hasta un 81 % de las hembras tienen gónadas clasificadas como “excelentes” frente al 29 % de los machos, mientras que sólo el 3 % de las hembras presenta gónadas “inaceptables” frente al 31% de los machos.

PALABRAS CLAYE

Erizo de mar, *Paracentrotus lividus*, carotenoides, color gonadal, sexo.

INTRODUCCIÓN

El erizo de mar común *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), es un equinoideo de amplia distribución geográfica (Mediterráneo y Atlántico oriental desde las Islas Británicas hasta Canarias y sur de Marruecos) con gran potencial como recurso pesquero y acuícola. El aumento de la demanda del mercado ha incrementado la pesca de esta especie poniendo en peligro sus poblaciones naturales. Este hecho ha propiciado el inicio, en Andalucía, de estudios orientados a la introducción y desarrollo del cultivo del erizo de mar común en nuestra comunidad.

El interés comercial de *Paracentrotus lividus* reside en sus gónadas, que son comestibles y se consideran una exquisita *delicatessen*. Por eso, además del tamaño de la gónada producida, importa sobre todo la calidad, que es la que determina su valor comercial. El color de la gónada es uno de los factores que más profundamente influyen sobre esta calidad y, consecuentemente, sobre el precio del producto.

La alimentación con piensos artificiales de finalización, suministrados a los animales unos meses antes del sacrificio, produce una mejora sustancial del tamaño de la gónada incluso en aquellas épocas del año de índices gonadales naturales más bajos (Robinson *et al.*, 2002; Shpigel *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2012). Sin embargo este tipo de piensos puede fallar en cuanto a la obtención de una buena calidad comercial de color o sabor gonadal. El objetivo de nuestro estudio ha sido evaluar la eficacia de la suplementación de este tipo de alimentos con carotenoides para la mejora del color gonadal en relación con el sexo del animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del estudio se recolectaron del medio natural (Salobreña, Granada. España) un total de 540 ejemplares de *Paracentrotus lividus* (tallas: 4,5-5,0 cm de diámetro) que se distribuyeron, al azar, en lotes de 30 ejemplares que se estabularon en una estructura de engorde consistente en 18 cajas de fruta de material plástico con elementos de sujeción y flotación. Esta estructura flotaba, libremente, en un tanque de 50 m³ de la piscifactoría de la empresa Acuicultura de Granada S.L. situada en Salobreña (Granada). El tanque tenía un suministro continuo de agua de mar que mantuvo la concentración de oxígeno siempre superior al 90% del valor de saturación. La temperatura del agua varió libremente entre 14 y 20°C. La salinidad se mantuvo entre 37 y 40 ‰ y el pH fue de 8,2-8,3.

Tabla I.- Composición de las distintas dietas (tratamientos) ensayadas en el experimento

Ingredientes (% peso seco)	Tratamiento/dieta					
	Dieta Base (DB)	DB+ astaxantina	DB+ capsantina	DB+ β-caroteno	DB+ <i>Ulva</i> sp	<i>Ulva</i> sp
Harina de pescado	27,8	27,8	25,6	27,8	33,9	
Harina de soja	27,8	27,8	25,6	27,8	8,8	
<i>Ulva</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	25,1	100,0
Aceite de pescado	1,9	1,9	1,3	1,4	1,6	
Aceite de soja	1,9	1,9	1,3	1,4	1,6	
Lecitina de soja	1,9	1,9	1,3	1,4	1,6	
Almidón pregelatinizado	17,2	17,0	11,0	17,2	18,0	
Alginato sódico	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	
Mezcla vitamínica	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
Vitamina C	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
Mezcla mineral	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	
Cloruro cálcico	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	
Celulosa	12,2	12,2	10,0	12,2	0,0	
Carophyll Stay-Pink®	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	
Pimentón dulce	0,0	0,0	14,7	0,0	0,0	
Betacaroteno Solgar®	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Los distintos lotes fueron distribuidos, al azar, entre los 6 tratamientos alimentarios ensayados (con 3 réplicas/lotes para cada uno). Estos tratamientos (Tabla I) se basaron en una dieta base (DB), sin aditivos colorantes, a la cual se le añadieron, como ingredientes, distintas fuentes de carotenoides tales como astaxantina sintética (Carophyll Stay-Pink®, 11% riqueza, DMS Nutritional Products Ltd.), capsantina natural (pimentón dulce comercial marca Mercadona®) o β -caroteno natural procedente de *Dunaliella salina* (Betacaroteno oceánico 7 mg, marca SORGAL®) así como algas verdes (*Ulva* sp) recolectadas del medio. La cantidad a suplementar, de los distintos ingredientes carotenoides, se calculó para un aporte teórico de 250 mg de carotenoides por kg de alimento (Robinson *et al.*, 2002). Como tratamiento control se usó la alimentación exclusiva con algas verdes (*Ulva* sp.). Otro control adicional se estableció con erizos silvestres recolectados e, inmediatamente, sacrificados en las mismas fechas de la toma de muestras gonadales de los ensayos de engorde.

La alimentación, 2 veces a la semana, fue *ad libitum*. El experimento tuvo una duración total de tres meses (marzo-mayo 2012).

Tras el periodo de engorde se procedió al sacrificio de todos los animales para la extracción de las gónadas. Al mismo tiempo se recolectaron y sacrificaron ejemplares del medio natural (costa de Granada) para obtener el tratamiento control silvestre.

Tabla II.- Códigos Pantone® de las categorías de calidad comercial de los colores gonadales encontrados en este experimento.

CATEGORIAS DE CALIDAD COMERCIAL DEL COLOR GONADAL			
	EXCELENTE	ACEPTABLE	INACEPTABLE
Código de color Pantone ®	144 U	136 U	153 U
	150 U	137 U	154 U
	151 U	142 U	155 U
	1375 U	148 U	160 U
	1505 U	152 U	161 U
	Orange O21 U	156 U	1535 U
	136 U	157 U	1545 U
		159 U	1525 U

El sexo de los individuos fue determinado, *de visu*, en el 57 % de los individuos (n=370) que emitió gametos en el momento de la extracción de las gónadas (Zhao *et al.*, 2010), identificándose los machos por el color blanquecino de su fluido y las hembras por su color naranja.

La clasificación comercial del color gonadal se estableció en tres categorías distintas:

“excelente”, ”aceptable” e “inaceptable”, en función de las preferencias del consumidor según Cook *et al.* (1998). Este método de clasificación usa determinados colores de la escala Pantone® como referencia. La tabla II muestra los códigos Pantone® de los colores encontrados en nuestras muestras, clasificados según su calidad.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico SPSS realizando análisis ANOVA-Tukey y χ^2 .

RESULTADOS

La figura 1 muestra la proporción de las distintas categorías de calidad comercial del color gonadal en función del sexo y del tratamiento alimentario.

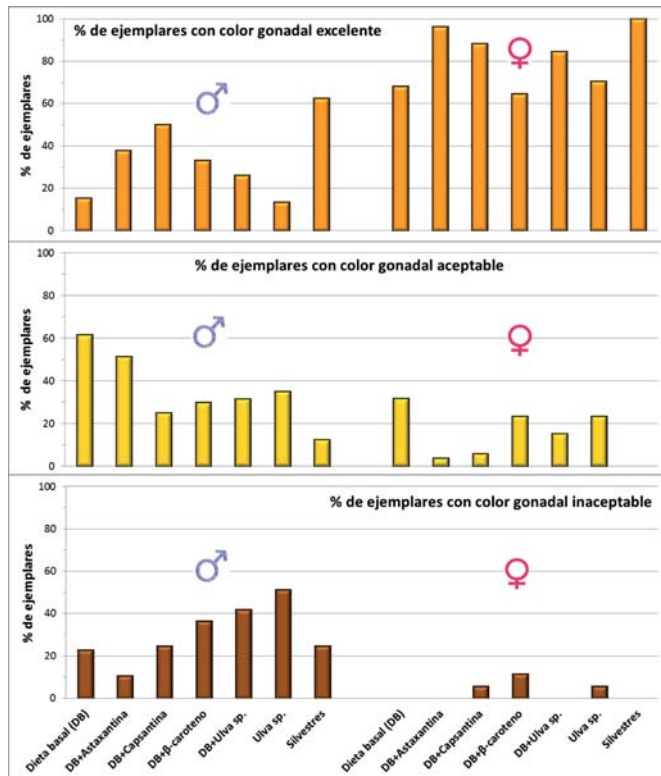


Figura 1.- Categorías de calidad comercial del color gonadal según el sexo y el alimento.

La Fig. 2 muestra los resultados obtenidos agrupando los datos de calidad comercial del color gonadal en función del sexo de los individuos: el 81 % de los individuos hembra tiene categoría “excelente”, frente al 29 % de los machos. En estos últimos, la categoría predominante es la “aceptable”, con un 39 % de los ejemplares seguida de la “inaceptable” con un 31 %. En las hembras, esta última categoría es despreciable (3 %).

Los colores gonadales “excelentes” encontrados por nosotros han sido, siempre, naranjas con tonos intensos o rojizos (ver códigos Pantone® de color en la Tabla II). Estos colores han sido los predominantes en las hembras (Fig.2). Los colores comercialmente “aceptables” han sido naranjas más pálidos y amarillentos (Tabla II). Los colores “inaceptables”, más frecuentes en los machos (Fig.2), han sido, siempre, de la gama de los marrones con tonos más o menos intensos (Tabla II).

La proporción de sexos, en los individuos sexualmente identificados, fue de 54 % machos y 46 % hembras (1,2:1).

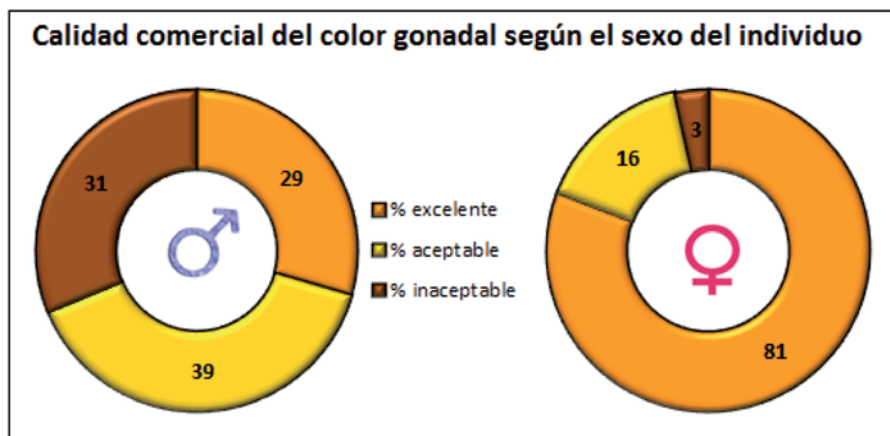


Figura 2.- Categorías de calidad comercial del color gonadal según el sexo del individuo.

DISCUSIÓN

El uso de piensos artificiales de finalización permite una mejora sustancial del tamaño de gónada de los ejemplares engordados (Robinson *et al.*, 2002; Shpigel *et al.*, 2005). Sin embargo este tipo de piensos puede fallar en cuanto a la obtención de una buena calidad de

color o sabor.

Los piensos compuestos artificiales ensayados por nosotros ya han demostrado su eficacia en la mejora del tamaño gonadal, que se duplica o triplica en relación con la alimentación exclusiva con algas (Hidalgo *et al.*, 2010; Álvarez *et al.*, 2012). Nuestros actuales resultados muestran que, además, una adecuada suplementación carotenoides de estas dietas puede mejorar la calidad del color gonadal obtenido, aunque de manera diferente según el sexo del individuo.

La alimentación en el medio natural (animales silvestres) es la que da unos mejores resultados de coloración mientras que la dieta base artificial empleada (DB, Fig.1), basada en harina de pescado y de soja, falla en este aspecto, sobre todo en machos. Sin embargo, esta dieta ve significativamente mejorada su eficacia en la génesis de coloración gonadal cuando se le añade astaxantina o capsantina o, en menor grado, *Ulva* sp. (al menos en hembras). Por el contrario, la suplementación con betacaroteno natural, procedente de *Dunaliella salina*, no ha dado los resultados esperables según la bibliografía (Robinson *et al.*, 2002) ni, tampoco, la alimentación exclusiva con *Ulva* sp. (Shpiegel *et al.*, 2005). Esto es llamativo porque las xantofilas alimentarias como la astaxantina y capsantina parecen no ser muy eficaces en la coloración de la gónada en comparación con el betacaroteno (Tsushima, 2007). El betacaroteno natural (no el artificial) sí lo sería por ser el precursor de la equinenona, que es el carotenoide mayoritario en la gónada del erizo y el responsable de la coloración naranja propia de la categoría de color “excelente” (Robinson *et al.*, 2002; Tsushima, 2007).

El sexo del individuo influye significativamente en la coloración gonadal y su calidad comercial (Fig. 2). La gónada femenina suele ser de un color naranja intenso o rojizo y de calidad comercial excelente, mientras que el macho tiene tendencia a producir una mayor proporción de gónadas pálidas o marrones, de menor o ninguna calidad comercial. La capsantina, procedente del pimentón dulce, parece especialmente eficaz en la mejora de la coloración gonadal de los machos (Fig. 1).

La proporción de sexos estimada en nuestro cultivo es de 1,2:1 (macho:hembra), valor próximo al 1:1 ideal de las poblaciones naturales y propio de los cultivos acuícolas (Zhao *et al.*, 2010). El engorde exclusivo de hembras supondría un aumento del rendimiento económico de la explotación comercial de *Paracentrotus lividus* si no fuera por la imposible preselección, debido a la estricta carencia de rasgos que permitan la identificación visual externa del sexo de estos animales.

CONCLUSIONES

- ❖ El uso de piensos artificiales enriquecidos con xantofilas alimentarias tales como astaxantina sintética o capsantina natural, produce una mejora en la calidad comercial del color gonadal de *Paracentrotus lividus*.
- ❖ La calidad comercial del color gonadal de *Paracentrotus lividus* depende, significativamente, del sexo.
- ❖ La capsantina parece especialmente eficaz en la mejora de la coloración gonadal de los machos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de la empresa Acuicultura de Granada S.L.

Este estudio se ha realizado dentro del proyecto “Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*)” de JACUMAR (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) con la participación de la Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente de la Junta de Andalucía a través de su Agencia de Gestión Agraria y Pesquera.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez P.A., Ortega C., Norman C. e Hidalgo F. 2012. The effect of four dietary pigments on the roe enhancement and gonad color of sea urchin *Paracentrotus lividus*. 14th International Echinoderm Conference. 20-25 agosto de 2012. Bruselas, Bélgica.
- Cook E.J., Kelly M.S. y Mckenzie J.D. 1998. Somatic and gonadal growth of the sea urchin *Psammechinus milliaris* (Gmelin) fed artificial salmon feed compared with a macroalgal diet. *J. Shellfish Res.* 17: 1549-1555.
- Hidalgo Puertas F., Díaz Casado M.E., Murillo R.M., Guirado D.J., Álvarez P. A. y Norman C. 2010. Alimentación y engorde del erizo de mar común (*Paracentrotus lividus*) comparando un pienso experimental con alimento natural. V Jornadas de Acuicultura

en el Litoral Suratlántico. 15-16 abril de 2010. Cartaya (Huelva), España.

- Robinson S.M.C., Castell J.D. y Kennedy E.J. 2002. Developing suitable colour in the gonads of cultured green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture* 206: 289-303.
- Shpigel M., McBride S.C., Marciano S., Ron S. y Ben-Amotz A. 2005. Improving gonad color and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture* 245: 101-109.
- Tsushima M. 2007. Carotenoids in sea urchins. En: Lawrence, J.M. (ed.). *Edible sea urchins*. Elsevier Science B.V., pp. 159-166.
- Zhao C., Weijie Z., Chang Y. y Liu P. 2010. Test and gonad characteristics in different genders of cultivated sea urchins (*Strongylocentrotus intermedius*, Agassiz): First insight into sexual identification. *African Journal of Biotechnology* 9(44): 7560-7563.

El cultivo del erizo de mar común, *Paracentrotus lividus*: piensos de finalización, sexo y calidad comercial del color gonadal.

Pedro Álvarez¹, Félix Hidalgo² y Carlos Norman³

¹Agencia de Gestión Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. España.

²Dpto. de Zoología. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. España.

³Servicio de Desarrollo Pesquero y Acuicola. Delegación de Granada. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. España.

E-mail: pedro.alvarez@juntadeandalucia.es

INTRODUCCIÓN

El erizo de mar común *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), es un equinoideo de gran potencial como recurso pesquero y acuícola. El interés comercial de *Paracentrotus lividus* reside en sus gónadas, que son comestibles y se consideran una exquisitez delicatessen. Por eso, además del tamaño de la gónada producida, importa sobre todo la calidad, que es la que determina su valor comercial. El color de la gónada es uno de los factores que más profundamente influyen sobre esta calidad y, consecuentemente, sobre el precio del producto. La alimentación con piensos artificiales de finalización, suministrados a los animales unos meses antes del sacrificio, produce una mejora sustancial del tamaño de la gónada incluso en aquellas épocas del año de índices gonadales naturales más bajos (Robinson et al., 2002; Shiguel et al., 2005; Álvarez et al., 2012). Sin embargo este tipo de piensos puede fallar en cuanto a la obtención de una buena calidad comercial de color o sabor gonadal. El objetivo de nuestro estudio ha sido evaluar la eficacia de la suplementación de este tipo de alimentos con carotenoides para la mejora del color gonadal en relación con el sexo del animal.

MATERIAL Y METODOS

540 ejemplares de *Paracentrotus lividus* (tallas: 4.5-5.0 cm de diámetro), recolectados en el medio natural (Cádiz, España), se distribuyeron, al azar, en lotes de 30 ejemplares que se establecieron en una estructura de engorde consistente en 18 cajas de fruta de material plástico, con elementos de sujeción y flotación, dispuestas en un tanque de 50 m³ con suministro continuo de agua de mar que se mantenía con una concentración de oxígeno superior al 90 % de saturación. La temperatura del agua varió entre 14 y 20 °C.

Tratamiento	DB	DB+V	DB+V+P	DB+V+P+X
Control	0	0	0	0
DB	0	0	0	0
DB+V	0	0	0	0
DB+V+P	0	0	0	0
DB+V+P+X	0	0	0	0

Tabla 1.- Composición de las distintas dietas (tratamientos) empleadas en el experimento.

Tabla 2.- Código Pantone® de las categorías de calidad comercial de los distintos gonadales encontrados en este experimento.

Se aplicaron 6 tratamientos alimentarios (Tabla 1) empleando 6 lotes (réplicas) para cada uno. Para ello se empleó una dieta base (DB) a la cual se añadieron distintas fuentes de carotenoides tales como astaxantina sintética (Carophyl Stay-Pink®), capsantina natural (pimentón dulce comercial Mercadona®) o β-caroteno natural procedente de Dunaliella salina (Betacaroteno coelómico SORGA®) así como algas verdes (*Ulva* sp.) recolectadas del medio. Como tratamiento control se usó la alimentación exclusiva con algas verdes (*Ulva* sp.). Otro control adicional se estableció con erizos silvestres. La alimentación, semanal, fue ad libitum.

El experimento tuvo una duración total de tres meses (marzo-mayo 2012). El sexo de los individuos fue determinado, de visu, en el 57 % de los individuos (n=370) que emitió gametos en el momento de la extracción de las gónadas (Zhao et al., 2010), identificándose los machos por el color blanquecino de su fluido y las hembras por su color naranja.

La clasificación comercial del color de las gónadas se estableció en tres categorías distintas (Tabla 2): "excelente", "aceptable" e "inaceptable" utilizando determinados colores de la escala Pantone® como referencia (Cook et al., 1998).

El análisis estadístico de los resultados se hizo con el paquete estadístico SPSS realizando análisis ANOVA-Tukey y χ^2 .



BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, P.A., Ortega, C., Norman, C. e Hidalgo, F. 2012. The effect of four dietary pigments on the size enhancement and gonad color of sea urchin *Paracentrotus lividus*. 14th International Echinoderm Conference, 20-25 de agosto de 2012. Trieste, Italia.

Cook, E.J., Kelly, M.S. y Mckenzie, J.D. 1998. Somatic and gonadal growth of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Gmelin) fed artificial salmon feed compared with a microalgae diet. J. Shellfish Res. 17: 1549-1556.

Hidalgo Fuentes, F., Díaz Casado, M.E., Murillo, B.M., Garrido, D.J., Álvarez, P.A. y Norman, C. 2010. Alimentación y engorde del erizo de mar común (*Paracentrotus lividus*) comparado un pienso experimental con alimento natural. V Jornadas de Acuicultura y el Dorado Suratlántico, 15-16 de abril de 2010. Cádiz (España).

Robinson, S.M.C., Cassel, J.D. y Kennedy, E.J. 2002. Developing suitable colour in the gonads of cultured green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture 206: 299-303.

Shiguel, M., Mubidin, S.C., Marciano, S., Ron, S. y Ben-Arnon, A. 2005. Improving gonad color and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. Aquaculture 245: 101-109.

Tsushima, M. 2007. Carotenoids in sea urchins. En: Lawrence, J.M. (ed.) Echinera sea urchin. Elsevier Science B.V. pp. 159-166.

Zhao, C., Wang, Z., Chang, Y. y Liu, P. 2010. Test and gonad characteristics in different genders of cultured sea urchins (*Strongylocentrotus intermedius*, Agassiz). First insight into sexual identification. African Journal of Biotechnology 9(44): 7560-7563.

RESULTADOS

La Fig. 1 muestra la proporción de las distintas categorías de calidad comercial del color gonadal en función del sexo y del tratamiento alimentario.

La Fig. 2 muestra los resultados obtenidos agrupando los datos de calidad comercial del color gonadal en función del sexo de los individuos.



Los colores gonadales "excelentes" encontrados por nosotros han sido, siempre, naranjas con tonos intensos o rojos (ver códigos Pantone® de color en la Tabla 2). Estos colores han sido los predominantes en las hembras (Fig. 2).

Los colores comercialmente "aceptables" han sido naranjas más pálidos y amarillentos (Tabla 2).

Los colores "inaceptables", más frecuentes en los machos (Fig. 2), han sido, siempre, de la gama de los marrones con tonos más o menos intensos (Tabla 2).

La proporción de sexos, en los individuos sexualmente identificados, fue de 54 % machos y 46 % hembras (1.2:1).

El 81 % de los individuos hembra tiene categoría de color gonadal "excelente" (Fig. 2), frente al 29 % de los machos. En estos últimos, la categoría predominante es la "aceptable", con un 39 % de los ejemplares seguida de la "inaceptable" con un 31 %. En las hembras, esta última categoría es despreciable (3 %).

DISCUSIÓN

El uso de piensos artificiales de finalización permite una mejora sustancial del tamaño de gónada de los ejemplares engordados (Robinson et al., 2002; Shiguel et al., 2005). Sin embargo este tipo de piensos puede fallar en cuanto a la obtención de una buena calidad de color o sabor.

Los piensos compuestos artificiales ensayados por nosotros ya han demostrado su eficacia en la mejora del tamaño gonadal, que se duplica o triplica en relación con la alimentación exclusiva con algas (Hidalgo et al., 2010; Álvarez et al., 2012). Nuestros actuales resultados muestran que, además, una adecuada suplementación carotenóica de estas dietas puede mejorar la calidad del color gonadal obtenido, aunque de manera diferente según el sexo del individuo.

La alimentación natural en el medio natural (animales silvestres) es la que da unos mejores resultados de coloración mientras que la dieta base artificial empleada (DB, Fig. 1), basada en harina de pescado y de soja, falla en este aspecto, sobre todo en machos. Sin embargo, esta dieta ve significativamente mejorada su eficacia en la génesis de coloración gonadal cuando se le añade astaxantina o capsantina o, en menor grado, *Ulva* sp. (al menos en hembras). Por el contrario, la suplementación con betacaroteno natural, procedente de *Dunaliella salina*, no ha dado los resultados esperables según la bibliografía (Robinson et al., 2002). ni, tampoco, la alimentación exclusiva con *Ulva* sp. (Shiguel et al., 2005). Esto es llamativo porque las xantofilas alimentarias como la astaxantina y capsantina parecen no ser muy eficaces en la coloración de la gónada en comparación con el betacaroteno (Tsushima, 2007). El betacaroteno natural (no el artificial) si lo sería por ser el precursor de la equinonona, que es el carotenóide mayoritario en la gónada del erizo y el responsable de la coloración naranja propia de la categoría de color "excelente" (Robinson et al., 2002; Tsushima, 2007).

El sexo del individuo influye significativamente en la coloración gonadal y su calidad comercial (Fig. 2). La gónada femenina suele ser de un color naranja intenso o rojo y de calidad comercial excelente mientras que el macho tiene tendencia a producir una mayor proporción de gónadas pálidas o marrones, de menor o ninguna calidad comercial. La capsantina, procedente del pimentón dulce, parece especialmente eficaz en la mejora de la coloración gonadal de los machos (Fig. 1).

La proporción de sexos estimada en nuestro cultivo es de 1.2:1 (macho:hembra), valor próximo al 1:1 ideal de las poblaciones naturales y propio de los cultivos acuícolas (Zhao et al., 2010). El engorde exclusivo de hembras supondría un aumento del rendimiento económico de la explotación comercial de *Paracentrotus lividus* si no fuera por la imposible preselección debido a la estricta carencia de rasgos que permitan la identificación visual externa del sexo de estos animales.

CONCLUSIONES

- ✓ El uso de piensos artificiales enriquecidos con xantofilas alimentarias tales como astaxantina sintética o capsantina natural, produce una mejora en la calidad comercial del color gonadal de *Paracentrotus lividus*.
- ✓ La calidad comercial del color gonadal de *Paracentrotus lividus* depende, significativamente, del sexo.
- ✓ La capsantina parece especialmente eficaz en la mejora de la coloración gonadal de los machos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de la empresa Acuicultura de Granada S.L. Este estudio se ha realizado dentro del proyecto "Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*)" de JACUMAR (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) con la participación de la Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente de la Junta de Andalucía a través de su Agencia de Gestión Agraria y Pesquera.

Engorde de corvina *Argyrosomus regius* en estanque de tierra hasta los 3 años

Saavedra M., Muñoz J.L., Marengo J.L., Cárdenas S.

Centro IFAPA *El Toruño*. Apto 16. 11.500 El Puerto de Santa María. España
manuelc.saavedra@juntadeandalucia.es

RESUMEN

Durante 2,5 años (entre noviembre de 2009 y junio de 2012) se cultivaron 1.000 corvinas *Argyrosomus regius* (Asso 1801) en un estanque de 1.000 m² con flujo continuo de agua y aporte de pienso. Pasaron de 27 g de peso vivo y 13,5 cm de longitud total a 1,13 kg y 47 cm. Se consumieron 3,6 t de pienso. Los alevines nacieron de huevos de puesta ocurrida en junio de 2009 en el Criadero de Centro IFAPA *El Toruño*, y tenían por tanto 5 meses de vida al inicio de este cultivo en estanque.

INTRODUCCIÓN

La corvina es una especie que suscita un interés creciente tanto por parte de acuicultores como de investigadores, siendo la cuarta especie piscícola en importancia en la piscicultura española de agua marina (APROMAR, 2012). Abundan los estudios referidos a peces de menos de un año y escasean aquellos referidos a etapas posteriores (Calderón *et al.*, 1997; Ortega y de la Gándara, 2007). En este trabajo se estudia el crecimiento hasta los tres años de vida y se pretende cerrar el ciclo, reproduciendo en su momento estos peces que proceden de una puesta ocurrida en Centro IFAPA *El Toruño* en junio de 2009.

MATERIAL Y MÉTODOS

El cultivo se ha realizado en un estanque de tierra de la Granja Marina del Centro IFAPA *El Toruño* (El Puerto de Santa María, Cádiz) de 1.000 m² y forma rectangular (80 m x 13 m). Los dos extremos estaban comunicados con una reserva de 4 ha. Por un extremo una hélice sacaba agua hacia la reserva (350 m³/h), que retornaba por el otro extremo. El agua de la reserva se renovó un 15 % diario por bombeo desde el río San Pedro. El estanque, de 1-2 m de profundidad, estuvo cubierto por una malla antiaves soportada por estacas perimetrales y cabos y tuvo un aireador de paletas que desde febrero de 2011 estuvo funcionando continuamente. En el agua se midió periódicamente la salinidad, temperatura máxima y mínima, pH y concentración de oxígeno disuelto.

En seis fechas se ha muestreado el peso vivo total y longitud total de una muestra de 30 corvinas, y se ha calculado el correspondiente índice de condición ($IC=100*\text{Peso}(g)/\text{Longitud}^3(\text{cm})$). Para comparaciones se ha utilizado la t-Student. Como índices de crecimiento se han utilizado el incremento diario en talla (mm/d) y peso (g/d) y la tasa específica de crecimiento ($SGR=100*\text{Ln}(\text{Peso final}/\text{Peso inicial})/\text{días}$).

El número de corvinas en el estanque fue reduciéndose a lo largo del cultivo por extracciones para otras experiencias. Comenzó con 5.000 corvinas. En junio de 2010 quedaron 1.800, a las que no se les suministró pienso durante 2 meses. En septiembre de 2010 se redujeron a 1.400 y en marzo de 2011 a 1.000. En los dos muestreos de 2012 se les aplicó un masaje abdominal a los individuos muestreados para detectar posibles machos maduros sexualmente.

Se suministraron 3.600 kg de pienso de la marca Skretting CV. La tabla I recoge para cada periodo consecutivo entre muestreos la cantidad total de pienso aportada en kg, así como la dosis media diaria en kg/d y el calibre. En agosto de 2010 se cambió a pienso de 6 mm, junio de 2011 a pienso de 8 mm y el enero de 2012 a pienso de 10 mm.

Tabla I.- Suministro de pienso a la corvinas en los periodos entre muestreos.

Periodo	kg	kg/d	mm
29/11/09 a 26/4/10	135	1	2
26/4/10 al 29/9/10	690	4,4	4-6
29/9/10 al 11/5/11	700	3,1	6
11/5/11 al 20/9/11	825	6,3	6-8
20/9/11 al 13/12/11	725	8,6	8
13/12/11 al 21/3/12	200	2	8-10
21/3/12 al 5/6/12	325	4,3	10
Total			3.600

RESULTADOS

La figura 1 recoge la evolución de las temperaturas (máxima y mínima) en °C y de la salinidad en g/L del agua del estanque. La temperatura estuvo comprendida entre 6 y 32 °C y la salinidad entre 20 y 45 g/L .

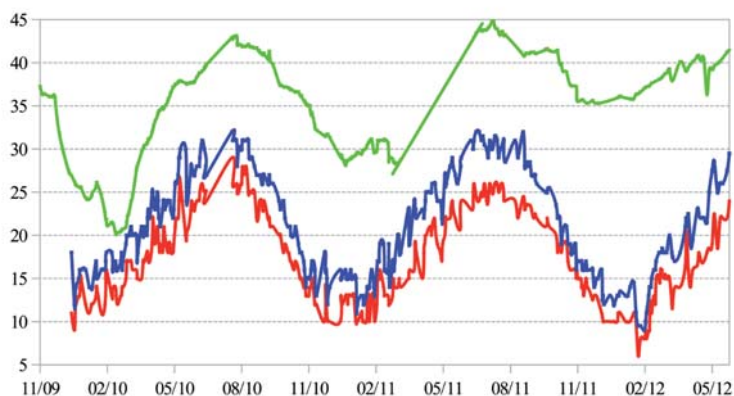


Figura 1.- Variación de la salinidad en g/L (línea verde) y temperatura máxima (línea azul) y mínima (línea roja) en °C a lo largo del cultivo en el agua del estanque de corvina.

La figura 2 recoge la evolución de la concentración de oxígeno disuelto en el agua del estanque. Estuvo comprendida entre 2,3 y 10,2 mg/L. El pH estuvo comprendido entre 7,7 y 9,0.



Figura 2.- Evolución de la concentración de oxígeno disuelto en mg/l del agua del estanque de corvina.

Las figuras 3 y 4 muestran respectivamente la evolución de la media (con su correspondiente error estándar) del peso vivo y talla a lo largo de los muestreos. La figura 4 además muestra la evolución de la tasa específica de crecimiento SGR.

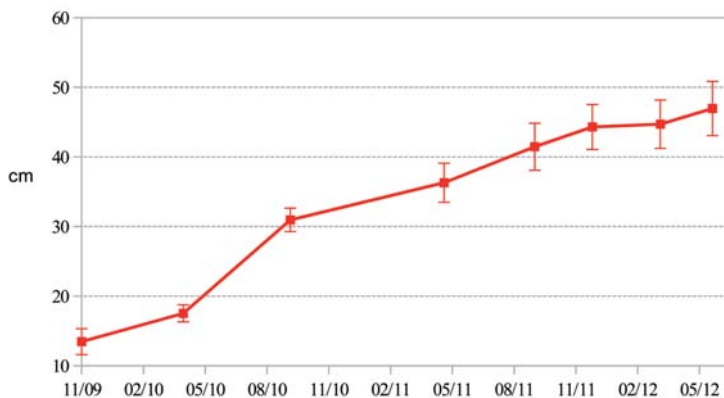


Figura 3.- Longitud total media (con su error estandar) de las corvinas lo largo de los muestreos.

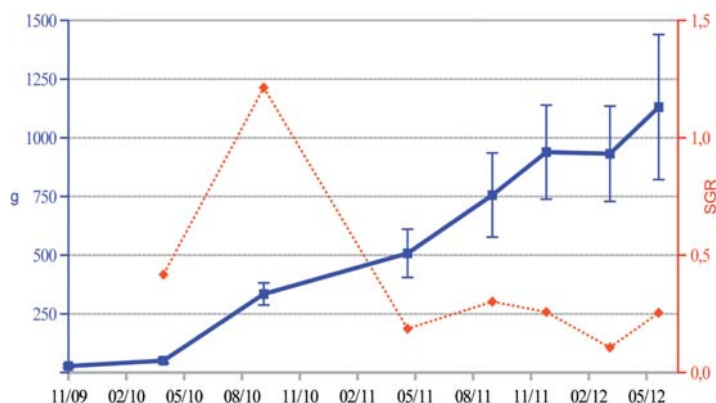


Figura 4.- Peso vivo medio (con su error estándar) (línea azul) y SGR (línea roja) de las corvinas a lo largo de los muestreos.

Hasta el 13 de diciembre de 2011 hubo siempre diferencias muy significativas ($P < 0,001$) de ambos parámetros entre muestreos sucesivos, pero no en el siguiente trimestre hasta el 21 de marzo ($P > 0,5$). En el siguiente trimestre volvió a haber diferencias significativas ($P < 0,005$ en peso y $P < 0,05$ en talla).

Los índices de crecimiento para el periodo total de cultivo han sido 0,4 mm/d, tasa específica SGR 0,4 y 1,2 g/d. En la tabla II aparecen los valores de los tres índices para los distintos periodos consecutivos entre muestreos. En el periodo abril-septiembre de 2010 tuvieron los valores más altos la tasa específica SGR (1,2 frente a 0,2-0,4 de los otros periodos) y el incremento en talla (0,9 mm frente a 0,2-0,4). La ganancia en g/d fue mínima en los cinco primeros meses de cultivo (0,2 g/d), estando en el resto de los periodos comprendida entre 0,8 y 2,6 g/d.

Tabla II.- Índices de crecimiento de las corvinas.

Periodo	mm/d	g/d	SGR
Nov 09 - abril 10	0,3	0,2	0,4
Abril 10 - sept 10	0,9	1,8	1,2
Sept 10 - mayo 11	0,2	0,8	0,2
Mayo 11 - dic 11	0,4	2	0,3
Marzo 12 - junio 12	0,3	2,6	0,3

El índice de condición tuvo un valor de 0,9 en los dos primeros muestreos. Subió ($P < 0,001$) a 1,1 en septiembre de 2010, bajó ($P < 0,001$) a 1 en mayo de 2011 y se mantuvo sin diferencias ($P > 0,05$) hasta el final de la experiencia.

La mortalidad observada ha sido muy baja. El 6 de febrero de 2012 se produjo un 4% debido a obturación del marco de malla de entrada de agua del estanque. En el resto del tiempo de cultivo hubo una mortalidad dispersa inferior al 2%. El masaje abdominal aplicado a las muestras de 2012 no detectó ningún macho maduro en marzo pero sí uno (31 corvinas masajeadas) en junio de 960 g y 46 cm que fue maduro fluente.

El suministro de pienso ha variado a lo largo del cultivo. La tabla III recoge para diversos periodos consecutivos la dosis diaria media en kg/d así como el porcentaje que supone esta respecto a la biomasa estimada inicial del periodo. En general se ha visto poca actividad de los peces y poco consumo de pienso en los inviernos, variando a principios de marzo. Al comienzo del cultivo (invierno 2010) no se vieron los peces hasta el 5 de marzo. En diciembre de 2010 hubo que bajar la dosis diaria a 0,2% de la biomasa, y anularla en febrero de 2011. En el último invierno también hubo que bajar la dosis diaria a 0,1% de la biomasa, y no se vio crecimiento. En los veranos los peces se han visto más activos y voraces.

Tabla III.- Tasa diaria de alimentación en periodos consecutivos en kg/d y en porcentaje de la biomasa inicial del periodo.

Periodo	kg/d	% biom in
29/11/09 al 5/3/10	0,6	0,4
5/3/10 al 26/4/10	1,8	1,3
26/4/10 al 22/6/10	8,8	3,5
22/6/10 al 24/8/10	0	
24/8/10 al 29/9/10	5,3	
29/9/10 al 17/11/10	7,1	1,5
17/11/10 al 21/1/11	0,8	0,2
21/1/11 al 3/3/11	0	0
3/3/11 al 11/5/11	4,3	0,9
11/5/11 al 20/9/11	6,3	1
20/9/11 al 13/12/11	8,6	1,1
13/12/11 al 21/3/12	2	0,2
21/3/12 al 5/6/12	4,3	0,4

El factor de conversión del pienso (kg de pienso suministrado/incremento estimado de la biomasa) fue 1,4 en el primer año de cultivo en ambos intervalos entre muestreos. De septiembre de 2010 a septiembre de 2011 subió a 3,0 también en los dos intervalos entre muestreos. El último trimestre de 2011 subió a 4. Entre marzo y junio de 2012 fue 1,9.

DISCUSIÓN

El crecimiento ha sido menor que el observado entre diciembre de 2007 y abril de 2009 en el mismo estanque y con corvinas de edad y tamaño inicial similar (Saavedra *et al.*, 2011). Entonces se obtuvieron índices de crecimiento de 0,6 mm/d, SGR de 0,6 y 1,4 g/d, y tamaño final de 42 cm y 680 g. En el presente trabajo en un periodo parecido (nov 2009 – Mayo 2011) las corvinas solo alcanzaron 36 cm y 500 g con 0,4 mm/d y 0,9 g/d, aunque la tasa específica SGR tuvo igual valor. Hay que considerar que no se les suministró pienso durante dos meses del verano de 2010. Los índices para el periodo total de cultivo de este trabajo también son todos inferiores a los obtenidos en 2007-2009.

En este experimento las corvinas han tardado 3 años en superar el kg de peso vivo, tiempo muy superior al citado por otros autores (APROMAR, 2012; Muñoz *et al.*, 2008). El comportamiento, consumo de pienso y crecimiento ha mostrado mucha estacionalidad con valores mínimos en invierno (especialmente enero-febrero) y máximos en verano (especialmente agosto y septiembre). En enero y febrero la temperatura máxima estuvo por debajo de 18°C, con mínimas de hasta 6°C. La actividad retomó en marzo con temperatura mínima superior a 12°C, aunque con igual máxima. En agosto y septiembre la temperatura estuvo comprendida entre 32 y 22°C. Las condiciones climáticas en las que se ha llevado el cultivo (altas variaciones estacionales de la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto) han influido negativamente sobre el crecimiento de esta especie. Así, valores de temperaturas comprendidos entre 16 y 20°C determinan una mayor tasa de ingesta de alimento (Quemener, 2002). Por otro lado, las altas salinidades registradas durante los meses estivales influyen negativamente sobre el crecimiento en los estados juveniles (Fielder 1999, Muñoz *et al.*, 2008).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido cofinanciado por el Plan Nacional de Cultivos Marinos JACUMAR

“Propuesta y mejoras para el diseño y control de los planes de repoblación y evaluación del impacto de los escapes”.

Queremos expresar nuestro agradecimiento a todos los compañeros de Centro IFAPA *El Toruño* que han participado en este trabajo, y especialmente a A. López, V. Muñoz y J.C. del Villar.

BIBLIOGRAFÍA

- APROMAR, 2012. La acuicultura marina de peces en España. MARM y APROMAR, Cádiz. 81 pp.
- Calderón J.A., Esteban J.C., Carrascosa M.A., Ruiz P.L., y Valera F., 1997. Estabulación y crecimiento en cautividad de un lote de reproductores de corvina (*Argyrosomus regius* (A.)). *VI Congreso Nacional de Acuicultura*. MAPA. Cartagena, Murcia 9-11 de Julio de 1997.
- Cárdenas S. 2011. *Cultivo de corvina, Argyrosomus regius*. Colección Cuadernos de Acuicultura, nº 3. FOESA, CSIC y MARM. 100 pp
- FAO, 2002. *Cultured aquatic species information program* *Argyrosomus regius*. Disponible en http://www.fao.org/fisheries/culturedspecies/Argyrosomus_regius.
- Fielder D.S. y Bardsley W. 1997. A preliminary studies on the effects of salinity on growth and survival of mulloway *Argyrosomus japonicus* larvae and juveniles. *Journal of World Aquaculture Society* 30, 380-387.
- Muñoz J.L., Rodríguez-Rúa A. y Cárdenas S. 2008. Crecimiento de corvina *Argyrosomus regius*, (Asso, 1801) en estanques de tierra a distintas salinidades. *IV Jornadas de Acuicultura en el Litoral Suratlántico*. Cartaya, Huelva, España.
- Ortega A., de la Gándara F., 2007. Crecimiento de corvina (*Argyrosomus regius*) en tanques. Páginas 763-766 en Cerviño A., Guerra A., Pérez C. eds. *Libro de Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*. Xunta de Galicia, Vigo, España.
- Quemener L., 2002. *Le maigre commun* *Argyrosomus regius*. *Biology, pêche, marché et potential aquacole*. Editions IFREMER, Plouzané, Francia, 31 pp.
- Saavedra M., Revilla E., Martín N. y Cárdenas S., 2011. Engorde de corvina *Argyrosomus regius* y lubina *Dicentrarchus labrax* en estanque de tierra con flujo continuo de agua. En: *Foro Rec. Mar. Ac. Rías Gal.* Rey-Méndez M., Lodeiros C., Fernandez-Casal J., Guerra A. (eds) 14, 289-296.

Engorde de corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) en estanque de tierra hasta los tres años

M. Saavedra, J.L. Muñoz, J.L. Marenco y S. Cárdenas

Centro IFAPA El Toruño, 11000 EL Puerto de Santa María, Cádiz
manuic.saavedra@jurdadesandalucia.es

Introducción

La corvina es una especie que suscita un interés creciente tanto por parte de acuicultores como de investigadores, siendo la cuarta especie piscícola en importancia en la piscicultura española de agua marina (Aproamar 2011). Abundan los estudios referidos a peces de menos de un año y escasean aquellos referidos a etapas posteriores. El presente trabajo recoge el crecimiento experimentado en un cultivo de 1000 corvinas durante dos años y medio en un estanque de tierra de 1000 m² con flujo continuo de agua. Los alevines, nacidos en cautividad en el criadero del Centro IFAPA El Toruño, fueron estabulados con 5 meses de edad, 27 g de peso medio y 13,5 cm de longitud media.

Material y métodos

Características del medio de cultivo



- Cultivo realizado en un estanque de tierra de 1.000 m² y forma rectangular (80 m x 13 m) del centro IFAPA El Toruño, comunicado con una reserva de 4 ha.
- Flujo continuo en recirculación por medio de una hélice (350 m³/h) que extrae agua del estanque de cultivo
- Renovación del 15 % diario por bombeo del río San Pedro.
- Profundidad del estanque comprendida entre 1 y 2 m.
- Airador de paletas funcionando continuamente.
- Estanque cubierto por una malla antiaves.
- Calidad del agua: salinidad, temperaturas, pH y oxígeno disuelto.

Los peces

Estabulación y cultivo de 5000 juveniles de 27g y 13,5 cm de media durante los primeros 20 meses.

Durante los siguientes 9 meses, el nº de corvinas se reduce a 1000 hasta final del cultivo con motivo de la extracción destinada a otros experimentos y a la repoblación.



Medidas de crecimiento

- 6 muestreos de más de 30 corvinas dada uno
- Índice de condición IC=(Peso/Longitud)³x100.
- Para comparaciones se ha utilizado la t-student.
- Incremento diario en talla (mm/d) y peso (g/d)
- Tasa específica de crecimiento:
- SGR=(Ln (Peso final/Peso inicial)/días) 100



Alimentación

3,6 t de pienso (Skretting CV) aportadas durante el cultivo con dosificador programable

Tabla I: Dosificación y características del pienso suministrado

periodo	kg	kg/d	mm
29/11/09 a 26/4/10	143	1	2
26/4/10 a 26/9/10	690	4,4	4-6
26/9/10 a 11/5/11	700	3,1	6
11/5/11 a 20/9/11	825	6,3	6-8
20/9/11 a 13/12/11	725	8,6	8
13/12/11 a 21/3/12	200	2	8-10
21/3/12 a 5/6/12	325	4,3	10



Dosificador de pienso y red antiaves en el estanque de cultivo

Resultados



Figura 1: Evolución de los valores de oxígeno disuelto

La concentración de oxígeno disuelto en el agua estuvo comprendida entre 2,3 y 10,2 mg/L, registrándose los valores más altos en los meses invernales.

De noviembre a marzo, las temperaturas registran valores inferiores a 15°C, con mínimas de hasta 6 °C, mientras que en agosto se alcanzan 32 °C de máxima.

La salinidad varió entre 20 y 45 g/L, determinada por las altas precipitaciones durante los meses de invierno, y por la alta evaporación en los meses cálidos.

El factor de conversión (pienso suministrado/incremento de la biomasa) fue 1,4 en el primer año de cultivo. En el 2º año se incrementó a 3. Entre marzo y junio de 2012 fue 1,6.

El incremento del peso registrado en los cinco primeros meses (0,2 g/d) es el mínimo de todo el cultivo, variando en el resto del periodo entre 0,8 y 2,6 g/d

En el periodo abril-septiembre de 2010 se registró el valor de la tasa específica (SGR) más alta (1,2 frente a 0,2-0,4 de los otros periodos).

El índice de condición estuvo comprendido entre 0,9 y 1,1.

En junio de 2012 se constató la presencia de un macho maduro fluyente de 960g y 46 cm

Al final de cultivo, el peso medio final alcanzado fue de 1130 g, habiéndose consumido 3,6 t de pienso.



Figura 2: Evolución de los valores de salinidad y temperaturas

Tabla II: valores de los tres índices para los distintos periodos consecutivos entre muestreos

periodo	m.m/d	g/d	SGR
nov 09 - abr 10	0,3	0,2	0,4
abr 10 - sep 10	0,9	1,8	1,2
sept 10 - may 11	0,2	0,8	0,2
may 11 - dic 11	0,4	2	0,3
mar 12 - jun 12	0,3	2,6	0,3
nov 09 - jun 12	0,4	1,2	0,4



Figura 3: Evolución de los pesos medios y de la tasa específica de crecimiento

Discusión

El peso medio final alcanzado tras 2,5 años de cultivo en estanque de tierra superó ligeramente el kg de peso, siendo inferior al obtenido en condiciones similares (mismo estanque, misma edad y tamaño inicial) durante el periodo 2008 a abril de 2009 (Saavedra et al., 2011), y muy inferior al citado por otros autores (Muñoz et al. 2008, Aproamar 2011).

Las condiciones climáticas en las que se ha llevado el cultivo (altas variaciones estacionales de la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto) han influido negativamente sobre el crecimiento de esta especie. Así, valores de temperaturas comprendidos entre 16 y 20 °C determinan una mayor tasa de ingesta de alimento (Quéménér, 2002). Por otro lado, las altas salinidades registradas durante los meses estivales influyen negativamente sobre el crecimiento en los estados juveniles (Fielder 1999, Muñoz et al. 2008).

La actividad, los valores de crecimiento y el consumo de pienso han mostrado estacionalidad con valores mínimos en invierno y máximos en verano, acordes con los valores registrados de temperaturas.

Los factores de conversión pueden estar sobredimensionados ya que no se ha podido registrar el consumo de pienso efectivo al ser un estanque de tierra, y por tanto, puede haber habido un exceso de aporte debido a la automatización del sistema de alimentación.

Los altos valores de dispersión observada en el peso de los peces, especialmente a partir de la 2ª mitad del cultivo, indicarían una alta competencia por el alimento.

Agradecimientos.

Este trabajo ha sido cofinanciado por el Plan Nacional de Cultivos Marinos JACUMAR "Propuesta y mejoras al diseño y control de los planes de repoblación y evaluación del impacto de los escapes".

A todos los compañeros de IFAPA Centro El Toruño que han participado en este trabajo, y especialmente a A. López, V. Muñoz y a J.C. del Villar.

Bibliografía

- APROMAR. La acuicultura marina de peces en España 2011.
- Cárdenas S. 2011. Crianza de la Corvina, *Argyrosomus regius*. Colección Cuadernos de Acuicultura, nº 3. FOESA, CSIC y MARM. 100 pp
- FAO, 2002. Cultured aquatic species information program *Argyrosomus regius*. http://www.fao.org/aquaculture/culturedspecies/Argyrosomus_regius
- Fielder D.S. & Bardsley W. 1997. A preliminary studies on the effects of salinity on growth and survival of mullet *Argyrosomus japonicus* larvae and juveniles. *Journal of World Aquaculture Society*, 30, 380-387.
- Muñoz J.L. et al. 2008. Crecimiento de corvina *Argyrosomus regius*, (Asso, 1801) en estanques de tierra a distintas salinidades. IV Jornadas de Acuicultura en el Litoral Suratlántico. Cartaya
- Quéménér L. 2002. Le maigre commun *Argyrosomus regius*. *Biology, pêche, marché et potential aquaculture*. Editions IFREMER, Plouzané, France, 31 pp.
- Saavedra M. et al. 2011. Engorde de corvina *Argyrosomus regius* y lubina *Dicentrarchus labrax* en estanque de tierra con flujo continuo de agua. XIV Foro de los recursos marinos y la acuicultura de las rías gallegas. pp 289-296.



Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y MEDIO AMBIENTE



Unión Europea

Estudio comparado de la actividad proteasa alcalina de la corvina (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) y otras especies de peces cultivados

García-Mesa¹ S., Sáez² M.I., García-Gallego¹ M., Martínez² T., Cárdenas³ S., Suárez² M.D.

¹Departamento de Zoología. Universidad de Granada. Granada. España.

²Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería. España.

³Departamento de Producción, Centro IFAPA *El Toruño*. El Puerto de Santa María, Cádiz, España.
sgarciam@ugr.es

RESUMEN

Se ha valorado la actividad proteasa de la corvina y otras especies de peces cultivados en condiciones similares a distintos pHs de incubación. Para ello se han utilizado ejemplares de corvina (*Argyrosomus regius*), dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y mero (*Epinephelus marginatus*) cultivados con las mismas condiciones ambientales y de manejo en jaulas de las instalaciones de Acuisleta S.L. (La Isleta del Moro, Almería), alimentados con piensos comerciales (44 % de proteína bruta (PB) y 20 % de grasa bruta (GB)) con una ración diaria equivalente al 1% de su peso corporal. Los muestreos se realizaron en el mes de febrero de 2010, con una temperatura del agua de $15\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. También se han utilizado ejemplares de tilapia (*Oreochromis niloticus*) mantenidas en el acuario emplazado en las instalaciones de la Universidad de Almería en cubas cilíndricas de fibra de vidrio, en un sistema cerrado de circulación de agua, alimentados dos veces al día a saciedad con un pienso experimental libre de soja (40,2 % PB y 10,3 % GB). Se tomaron 5 ejemplares de cada especie que, tras ser pesados, se diseccionaron para la determinación de los índices biométricos, a continuación se extrajo el intestino y se dividió en los siguientes tramos: ciegos pilóricos (CP), intestino proximal (IP) e intestino distal (ID), en cada uno de los cuales se determinó la

actividad proteasa alcalina bajo diferentes pHs de incubación. La actividad proteasa alcalina (U/g tejido pilórico) en la corvina fue similar a la de la dorada e inferior a los de mero y tilapia. La similitud con la dorada nos indica que se trata de dos especies carnívoras con buena capacidad para digerir las proteínas del alimento. Los mayores valores observados en el mero pueden ser debidos a una mayor capacidad de digestión de las proteínas por esta especie, o bien a que se encuentran en fase de crecimiento distinta, al tratarse de una especie de mayor tamaño que las anteriores.

PALABRAS CLAVE

Proteasas alcalinas, corvina, dorada, mero, tilapia.

INTRODUCCIÓN

La corvina (*Argyrosomus regius*) es una especie con gran potencial en la acuicultura mediterránea. Son pocos los estudios realizados sobre sus necesidades nutricionales; Turano *et al.* (2002) han establecido un contenido óptimo de proteína en la dieta de 44% y Piccolo *et al.* (2008) establecieron el nivel óptimo de grasa en el 17%. En estudios posteriores, Martínez-Llorens *et al.*, (2011) han determinado mayores porcentajes de proteína/grasa (46/20) en la dieta para el crecimiento óptimo de corvinas de 90 g de peso. Sin embargo, todavía existen lagunas importantes relativas a su alimentación. Son pocos los estudios destinados a conocer su fisiología digestiva, aspecto importante para optimizar la utilización de los nutrientes en especies de peces cultivados. Recientemente, Estévez *et al.* (2011) han estudiado el efecto de la inclusión de proteínas vegetales en los piensos sobre la actividad digestiva del ribete en cepillo en esta especie.

El desarrollo de piensos comerciales para peces pretende la obtención de un máximo crecimiento al menor coste posible lo que se puede conseguir, entre otras formas, aumentando el aprovechamiento que el pez hace del alimento. El estudio de la actividad de los enzimas digestivos en una especie de nuevo cultivo puede ayudar al desarrollo de piensos específicos, dado que la diferente capacidad digestiva hace que el aprovechamiento del pienso sea diferente para cada especie (Chakrabarti y Sharma, 2005). También se ha visto que el conocimiento de las condiciones óptimas de funcionamiento de las actividades enzimáticas digestivas puede aumentar la comprensión de la digestibilidad de los nutrientes en los peces

(Kolkovski, 2001).

Las proteasas tienen un especial interés, dado que la proteína es el principal componente de los piensos para peces, y su uso es fundamental para el crecimiento de los mismos (Essed *et al.*, 2002; Kaushik y Seiliez, 2010), en tanto que este principio inmediato es fuente tanto de aminoácidos como de energía. Los estudios de enzimas proteolíticas en peces han proporcionado información importante para mejorar la utilización de la proteína del alimento. Lemieux *et al.*, (1999) mostraron que la actividad proteasa estaba relacionada con un aumento en la eficiencia de la utilización del alimento y, consecuentemente, con el crecimiento en el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*). En el presente trabajo se han valorado y discutido las similitudes y diferencias entre la actividad proteasa de la corvina y la de otras especies de peces cultivados en condiciones similares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han utilizado ejemplares de corvina (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801), dorada (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758), lubina (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) y mero (*Epinephelus marginatus*, Lowe, 1834), cultivados con las mismas condiciones ambientales y de manejo en jaulas de las instalaciones de Acuileta S.L. (La Isleta del Moro, Almería). La alimentación se realizó de forma manual una vez al día, seis días a la semana con pienso comercial (BIOMAR. Ecolife 63 CHS 4,5 mm, 44 % de proteína bruta y 20 % de grasa bruta) con una ración diaria equivalente al 1% de su peso corporal. Los muestreos se realizaron en el mes de febrero de 2010, con una temperatura del agua de $15 \pm 0,1$ °C.

También se han utilizado ejemplares de tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) mantenidas en el acuario emplazado en las instalaciones de la Universidad de Almería en cubas cilíndricas de fibra de vidrio de 0,3 m³ de capacidad, con aireación constante, renovación de agua de 300 litros/hora, y en condiciones naturales de temperatura y fotoperiodo, en un sistema cerrado de circulación de agua mediante un doble filtro de arena y biológico. Los peces se alimentaron dos veces al día de forma manual hasta saciedad aparente con un pienso experimental libre de soja (40,2 % proteína, 10,3 % grasa).

La toma de muestras se realizó tomando 5 ejemplares de cada especie que se sacrificaron según la Directiva 2010/63/EU (sobredosis de metacaína), y, tras ser pesados, se diseccionaron para la determinación de las relaciones hepatosomática (RHS) y digestosomática (RDS), a continuación se extrajo el intestino y se dividió en los siguientes tramos: ciegos pilóricos

(CP), intestino proximal (IP) e intestino distal (ID), en cada uno de ellos se determinó la actividad proteasa alcalina bajo diferentes pHs de incubación.

Cada fracción digestiva se homogenizó con agua fría ultrapura en proporción 1:2 (p:v); los homogeneizados se centrifugaron (16000 rpm, 30 min, 4 °C) y el sobrenadante obtenido se separó y congeló a -80°C hasta el posterior análisis de las actividades enzimáticas. El contenido en proteína soluble de los sobrenadantes se determinó por el método de Bradford (1976), usando seroalbúmina bovina como estándar. La actividad proteasa alcalina se evaluó mediante el método descrito por Walter (1984), usando caseína al 1% como sustrato.

El efecto de cada tratamiento sobre los valores individuales se evaluó mediante el análisis de la varianza ANOVA de una vía seguido de comparación de las medias mediante el procedimiento de Tukey (LSD).

RESULTADOS

La tabla I muestra los parámetros biométricos de los ejemplares de corvina, dorada, mero y tilapia utilizados para el estudio de la actividad proteasa alcalina. Se utilizaron individuos de peso aproximado para las corvinas y las doradas (467,4 y 321,6 g respectivamente), pero no para las otras dos especies, ya que debimos adaptarnos a los animales disponibles en el momento del muestreo: meros de pesos superiores (817,7 g), tilapias de menor peso (123,0 g).

Estas diferencias de peso total entre especies fueron paralelas a las de sus correspondientes hígados, por lo que la relación hepatosomática fue muy similar entre las cuatro especies. No se apreció esta circunstancia en lo que concierne a los tubos digestivos por lo que las relaciones digestosomáticas resultaron superiores en dorada y tilapia y mínimos en corvina.

La actividad proteasa alcalina para las distintas especies y fracciones del tracto digestivo se muestra en la tabla II. Los resultados muestran valores máximos de actividad en ciegos pilóricos a pH 10,0 para todas las especies. En los extractos de intestino proximal y distal también son máximos los valores a ese pH, siendo muy similares a los observados en los ciegos pilóricos. Los resultados muestran valores de actividad proteasa alcalina en corvina similares a los de la dorada e inferiores a los de mero y tilapia cuando se expresan en U/mg de proteína y en U/g de tejido (Fig. 1). Estas diferencias se atenúan si los resultados se expresan en U/tejido total (Fig. 2), siendo similares las actividades para corvina, dorada y tilapia y muy superiores para el mero.

Tabla I.- Parámetros biométricos en las distintas especies (los valores son medias \pm EEM, n=5).

	CORVINA	DORADA	MERO	TILAPIA
Peso total (g)	467,40 \pm 34,78	321,60 \pm 5,28	817,75 \pm 83,48	123,00 \pm 14,58
Peso hígado (g)	5,34 \pm 0,96	4,23 \pm 0,84	9,66 \pm 1,66	1,1 \pm 0,09
Peso digestivo (g)	12,72 \pm 0,90	13,41 \pm 1,22	28,44 \pm 5,71	4,95 \pm 0,77
RHS (%)	1,12 \pm 0,15	1,33 \pm 0,61	1,20 \pm 0,21	0,89 \pm 0,07
RDS (%)	2,71 \pm 0,11	4,15 \pm 0,30	3,39 \pm 0,39	3,95 \pm 0,27

RHS: relación heptosomática; RDS: relación digestosomática

Superíndices muestran diferencias significativas ($P < 0,05$) entre diferentes especies.

Tabla II.- Efecto del pH sobre la actividad proteasa alcalina (U/mg proteína) de extractos de distintas porciones del intestino en las distintas especies (los valores son medias \pm EEM, n=5).

	pH	CORVINA	DORADA	MERO	TILAPIA
CP	7	0,82 \pm 0,08	1,30 \pm 0,08	2,39 \pm 0,13	4,83 \pm 0,43
	8	0,98 \pm 0,05	1,42 \pm 0,11	2,76 \pm 0,04	4,48 \pm 0,28
	9	1,41 \pm 0,05	1,49 \pm 0,07	2,77 \pm 0,16	4,40 \pm 0,34
	10	3,21 \pm 0,09	4,68 \pm 0,04	9,49 \pm 0,34	9,39 \pm 0,43
	12	0,45 \pm 0,03	0,42 \pm 0,08	0,42 \pm 0,04	4,25 \pm 0,08
IP	7	0,75 \pm 0,06	0,78 \pm 0,09	2,27 \pm 0,29	4,39 \pm 0,49
	8	0,78 \pm 0,03	1,19 \pm 0,12	2,32 \pm 0,18	4,81 \pm 0,44
	9	1,01 \pm 0,06	1,63 \pm 0,26	3,10 \pm 0,10	4,27 \pm 0,36
	10	2,72 \pm 0,11	4,01 \pm 0,15	9,47 \pm 0,13	8,40 \pm 0,28
	12	0,43 \pm 0,02	0,39 \pm 0,05	0,33 \pm 0,01	4,14 \pm 0,09
ID	7	0,83 \pm 0,05	0,79 \pm 0,08	2,13 \pm 0,27	4,47 \pm 0,54
	8	0,95 \pm 0,04	1,25 \pm 0,13	2,33 \pm 0,26	5,01 \pm 0,09
	9	1,02 \pm 0,08	1,54 \pm 0,10	2,64 \pm 0,12	4,34 \pm 0,38
	10	2,46 \pm 0,20	4,91 \pm 0,26	9,28 \pm 0,28	9,08 \pm 0,58
	12	0,51 \pm 0,03	0,42 \pm 0,07	0,28 \pm 0,02	4,16 \pm 0,12

Diferentes superíndices muestran diferencias significativas ($P < 0,05$) entre diferentes especies. CP: Ciegos pilóricos; IP: Intestino proximal; ID: Intestino distal

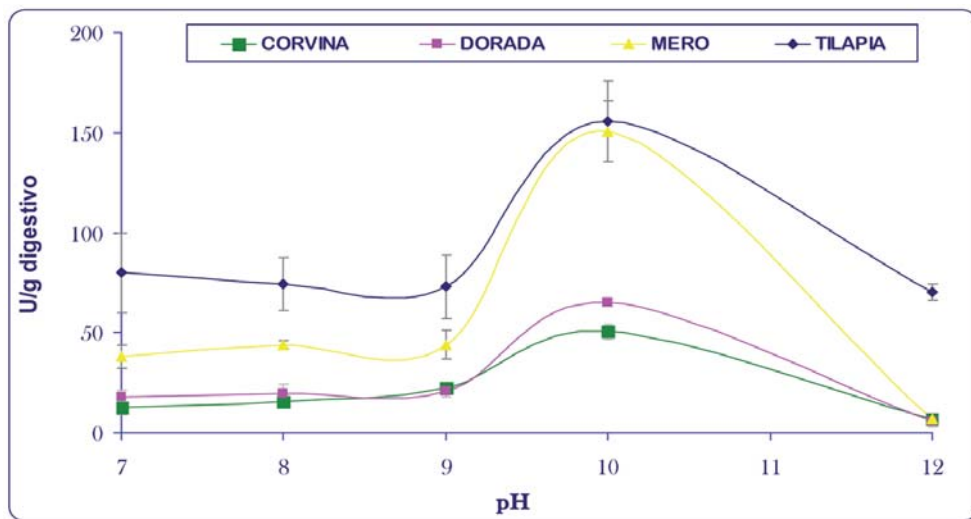


Figura 1.- Efecto del pH de incubación sobre la actividad proteolítica (U/g tejido) de extractos de ciegos pilóricos en las distintas especies (los valores son medias \pm EEM, n=5).

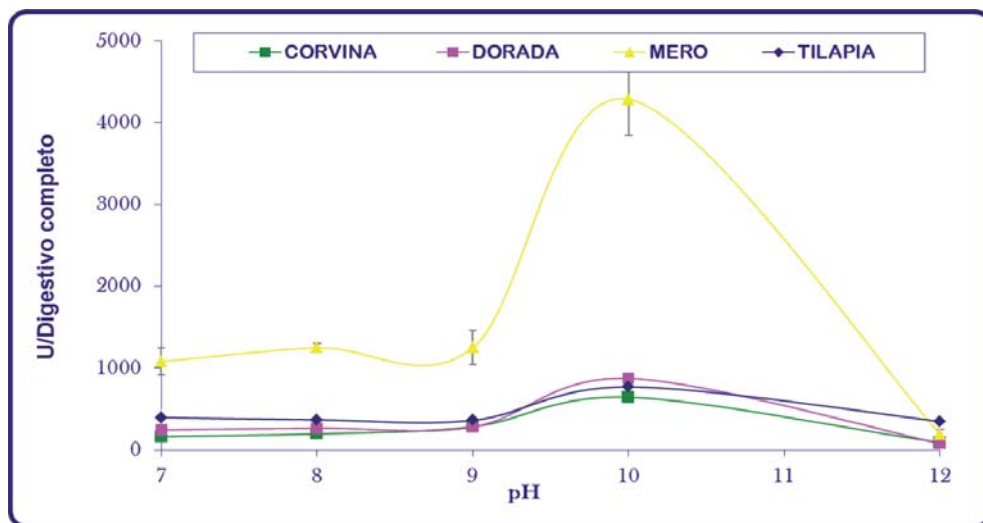


Figura 2.- Efecto del pH de incubación sobre la actividad proteolítica (U/digestivo completo) de extractos de ciegos pilóricos en las distintas especies (los valores son medias \pm EEM, n=5).

DISCUSIÓN

La corvina es un pez carnívoro que, en su hábitat natural, se alimenta de peces pelágicos y cefalópodos (Cárdenas, 2011). Su tracto digestivo es típico de peces carnívoros ya que está constituido por un estómago de paredes musculosas, una serie de ciegos pilóricos y un intestino no demasiado largo. El tamaño relativo del intestino ha sido menor en la corvina que en el resto de las especies estudiadas (Tabla I), tal y como se refleja en los bajos valores de relación digestosomática, propio de peces esencialmente carnívoros. El hecho de que los estudios relativos a la capacidad digestiva de la corvina sean escasos (Estévez *et al.*, 2011), hace que sea interesante comparar las actividades digestivas de la corvina con las de otras especies de peces, con la finalidad de completar la información sobre la capacidad digestiva de esta especie.

Los valores de actividad proteasa alcalina observados para las diferentes especies se mantuvieron constantes a lo largo del intestino. Frecuentemente se ha observado una disminución de la actividad proteasa y, en general de todas las actividades digestivas, en las porciones distales del intestino de los peces (Jun-Sheng *et al.*, 2006, Xiong *et al.*, 2011). El mantenimiento de la actividad proteasa en esta especie a lo largo del digestivo puede ser debido a que al poseer un intestino relativamente corto, y por consiguiente, un tiempo de tránsito relativamente rápido, la optimización de la digestión proteica se conseguiría mediante la conservación de esta actividad incluso en porciones más distales.

Las diferencias interespecíficas en la actividad de una enzima digestiva, expresada por unidad de peso de tejido, no siempre significan diferencias similares en la capacidad total del pez para la digestión del sustrato correspondiente, ya que posibles diferencias en el peso del órgano podrían compensar o acentuar las primeras.

En nuestro caso, podemos realizar una aproximación a este aspecto, tomando como referencias, por una parte, la relación entre las actividades de proteasa alcalina por gramo digestivo de las distintas especies, usando como referencia a nuestra especie de estudio, la corvina (medidas a pH 10, que ha proporcionado el máximo de actividad en todos los casos) y, por otra, las relaciones correspondiente entre las respectivas RDS. En ese caso, podemos observar que la corvina, no sólo exhibe una comparativamente menor actividad enzimática por unidad de peso de digestivo, sino también un digestivo más pequeño, en términos relativos (menores RDS) lo que acentúa esas diferencias en detrimento de la corvina. Por ejemplo, en relación con la dorada, la corvina tiene una actividad proteásica alcalina (promediando la de los diferentes segmentos estudiados, maniobra posible a partir de las escasas diferencias interterritoriales encontradas en cada especie) casi un 30% inferior si se expresa

por gramo de víscera, pero como también su digestivo (por unidad de peso corporal) es casi un 35 % menor; el “déficit” de actividad proteásica alcalina llegaría a ser de más de un 50% con respecto a la dorada.

Estas asunciones deben ser consideradas con cierta reserva debido a las diferencias en la edad/grado de desarrollo existentes entre las especies, que podrían reducir sus fundamentos, pero pueden ser útiles a la hora de diseñar piensos específicos para cada especie/etapa de crecimiento.

La alta actividad proteasa alcalina observada en la tilapia frente a especies carnívoras como la dorada y la corvina podría ser debida también a su menor tamaño (123 g), y, por lo tanto, a encontrarse en una etapa de crecimiento más rápido. También hay que tener en cuenta que las condiciones de cultivo para esta especie han sido muy diferentes. Adicionalmente, esta circunstancia puede reflejar un cierto efecto de compensación frente a la más baja cantidad de proteína de la dieta natural de peces herbívoros como la tilapia, protagonizado por un aumento de su actividad enzimática (Sabapathy y Teo, 1993; Hidalgo *et al.*, 1999), posiblemente para maximizar la eficiencia de utilización de las proteínas (Chan *et al.*, 2004), aunque en este caso las tilapias se han alimentado con un contenido proteico del 40 %.

El menor contenido en proteína de la dieta en peces herbívoros también puede verse compensado por un mayor tamaño del intestino (Stevens y Hume, 1995); esto no ocurre en nuestros resultados que muestran una relación digestivo somática similar para todas las especies, incluso con valores ligeramente inferiores para la tilapia. Se puede decir, por lo tanto, que esta especie compensa el menor contenido en proteína en su dieta natural aumentando la actividad proteasa pero mantiene la longitud del intestino, lo que hace que las diferencias entre las especies se atenúen cuando se expresa la actividad proteasa alcalina como U/digestivo completo.

CONCLUSIONES

La actividad proteasa alcalina en la corvina es similar a la de la dorada e inferior a los de mero y tilapia. La similitud con la dorada nos indica que se trata de dos especies carnívoras con buena capacidad para digerir las proteínas del alimento. Los mayores valores observados en el mero pueden ser debidos a una mayor capacidad de digestión de las proteínas por esta especie, o bien a que se encuentran en fase de crecimiento más rápido, al tratarse de una especie de mayor tamaño que las anteriores.

BIBLIOGRAFÍA

- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254.
- Cárdenas S., 2011. *Cultivo de corvina*, *Argyrosomus regius*. Colección Cuadernos de Acuicultura, nº 3. FOESA, CSIC y MARM. 100 pp.
- Chakrabarti R., Sharma J.G. 2005 Digestive physiology of fish larvae during ontogenic development: a brief overview. *Indian J. Anim. Sci.* 75: 1337–1347.
- Chan A.S., Horn M.H., Dickson K.A., Gawlicka A., 2004. Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: Comparisons among four closely related prickleback fishes (*Teleostei: Stichaeidae*) from a California rocky intertidal habitat. *J. Fish Biol.* 65: 848-858.
- Essed Z., Fernández I., Alarcón F.J., Moyano F.J. 2002. Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18: 99-107.
- Estévez A., Treviño L., Kotzamanis Y., Karacostas I., Tort L., Gisbert, G. 2011. Effects of different levels of plant proteins on the on-growing of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles at low temperatures. *Aquacult. Nutr.* 17: 572-582.
- Hidalgo M.C., Urea E., Sanz A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170: 267–283.
- Jun-Sheng L., Jian-lin L., Ting-ting W. 2006. Ontogeny of protease, amylase and lipase in the alimentary tract of hybrid Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*). *Fish Physiol. Biochem* 32: 295–303.
- Kaushik S.J., Seiliez, I. 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquacult. Res.* 41: 322-332.
- Kolkovski S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles. Implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200: 181-201.
- Lemieux H., Blier P., Dutil J.D. 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiol. Biochem.* 20: 293-303.
- Martínez-Llorens S., Espert J., Moya J., Jover-Cerdá M., Tomás-Vidal A. 2011. Growth and nutrient efficiency of meagre (*Argyrosomus regius*, Assol1801) fed extruded diets with different protein and lipid levels. *Int. J. Fish. Aquacult.* 3: 195-203.

- Piccolo G., Bovera F., De Riu N., Marono S., Salati F., Cappuccinelli R., Moniello G. 2008. Effect of two different protein/fat ratios on the diet of meagre (*Argyrosomus regius*) traits. *Ital. J. Anim. Sci.* 7: 363-371.
- Sabapathy U., Teo L.H. 1993: A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass (*Lates calcarifer*). *J. Fish Biol.* 42: 595–602.
- Stevens C.E., Hume I.D. 1995. *Comparative physiology of the vertebrate digestive system*. Cambridge University Press, Cambridge. 420 pp.
- Turano MJ, Davis D.A., Arnold D.R. 2002. Optimization of growth diets for red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquacult. Nutr.* 8: 95-101.
- Walter H.E. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. En: *Methods of Enzymatic Analysis*. H.J. Bergmeyer (ed), 5: 270–277. VerlagChemie, Weinham.
- Xiong D.M., Xie C.X., Zhang H.J., Liu H.P. 2011. Digestive enzymes along digestive tract of a carnivorous fish *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 95: 56–64.

Estudio comparado de la actividad proteasa alcalina de la corvina (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) y otras especies de peces cultivados

García-Mesa, S. (1), Sáez, M.I. (2), García-Gallego, M. (1), Martínez, T. (2), Cárdenas, S. (3), Suárez, M.D. (2).



1 Departamento de Zoología. Universidad de Granada. Granada. España. Email: sgarciam@ugr.es
 2 Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería. España.
 3 Departamento de Producción, Centro IFAPA El Toruño. Puerto de Santa María, Cádiz.



INTRODUCCIÓN

La corvina (*Argyrosomus regius*) es una especie con gran potencial en la acuicultura mediterránea.

Conocer su fisiología digestiva puede ayudar al desarrollo de piensos específicos, dado que la diferente capacidad digestiva hace que el aprovechamiento del pienso sea diferente para cada especie (Chakrabarti y Sharma, 2005).

Entre las enzimas digestivas, las proteasas tienen un especial interés, al ser la proteína el principal componente de los piensos para peces, siendo su uso fundamental para el crecimiento de los mismos (Essed et al., 2002; Kaushik y Seilliez, 2010), al utilizarse como fuente de aminoácidos y de energía.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se utilizaron ejemplares de corvina, dorada (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758), lubina (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) y mero (*Epinephelus marginatus*, Lowe, 1834), procedentes de Acuileta S.L. (La Isleta del Moro, Almería). Además se usaron ejemplares de tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) mantenidos en las instalaciones experimentales de la Universidad de Almería.

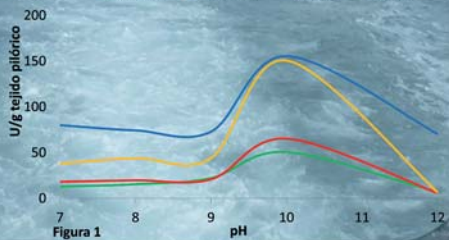
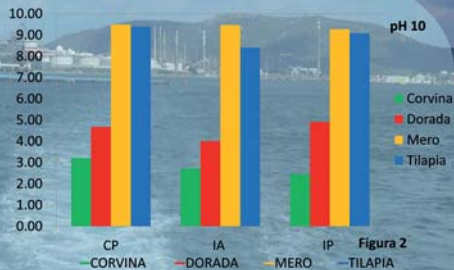
Los animales se sacrificaron y diseccionaron, separándose ciegos pilóricos (CP), intestino anterior (IA) e intestino posterior (IP), porciones en las que se determinó la actividad proteolítica alcalina, según Walter (1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de actividad proteasa alcalina se mantuvieron constantes a lo largo del intestino, siendo óptimo a pH 10 (figura 1).

Este mantenimiento en la corvina puede deberse a que poseen un intestino relativamente corto, un tiempo de tránsito relativamente rápido; la optimización de la digestión proteica se conseguirá mediante la conservación de esta actividad incluso en porciones más distales del intestino, ya que, además, esta especie exhibe una comparativamente menor actividad enzimática por unidad de peso de digestivo (figura 1 y 2).

Las diferencias de actividad proteasa encontradas entre especies carnívoras, dorada y corvina, frente a herbívoras, tilapia, puede deberse al menor tamaño y diferentes condiciones de cultivo. Posiblemente la menor proporción de proteína en la dieta natural de tilapia podría compensarse con un aumento de la capacidad proteolítica.



BIBLIOGRAFÍA

Chakrabarti, R., Sharma, J.G. 2005 Digestive physiology of fish larvae during ontogenic development: a brief overview. *Indian J. Anim. Sci.* 75: 1337-1347.
 Essed, Z., Fernández, I., Alarcón, F.J., Moyano, F.J. 2002. Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18: 99-107.
 Kaushik, S.J., Seilliez, I. 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquacult. Res.* 41: 322-332.

Estudio de flora ficológica de interés comercial en la costa de Granada

Norman C., Guerrero D., Ortega C.

Servicio de Desarrollo. Delegación Territorial de la Consejería de Agricultura , Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía.

josec.norman@juntadeandalucia.es

RESUMEN

Este trabajo pretende divulgar el estudio realizado en el litoral granadino, cuya finalidad fue determinar el catálogo ficológico de este espacio litoral y las posibles especies susceptibles de una explotación sostenible con fines comerciales, bajo la perspectiva de su capacidad generadora de productos aditivos intermedios como el agar y los carragenatos entre otros. Se prospectaron 40 parcelas de muestreo, se determinaron 32 especies de algas y se concluyó que *Asparagopsis armata* puede ser susceptible de aprovechamiento.

PALABRAS CLAVE

Algas, aprovechamiento, Granada.

INTRODUCCIÓN

La provincia de Granada presenta una extensión aproximada de 80 kilómetros de costa y una importante tradición pesquera en recesión desde los últimos 20 años. En este contexto se hace necesaria la diversificación en la explotación de recursos marinos que permita reavivar la actividad económica. Por sus múltiples usos (alimentación en acuicultura, biocombustible o base de los productos aditivos intermedios como alginatos o agar) y su fácil cultivo y extracción, las macroalgas ofrecen un interesante potencial pudiendo constituir una fuente de ingresos para el sector pesquero local. Conscientes de ello, la Delegación Provincial de Agricultura y Pesca de Granada propuso a la Dirección General de Pesca y Acuicultura el “Estudio sobre la Flora Ficológica de Interés Comercial en la Costa de Granada”. La dirección General trasladó el encargo a la Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero que ejecutó los trabajos correspondientes (EPDAP, 2007). Este trabajo pretende difundir el estudio realizado y, sobre todo, los resultados obtenidos en favor de la explotación sostenible de tan interesante recurso.

OBJETIVOS

Como objetivo principal en dicho proyecto, se planteó la elaboración del catálogo ficológico y la evaluación del posible interés comercial de las especies de macroalgas presentes en el litoral granadino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para identificar los posibles afloramientos rocosos de asentamiento de macroalgas se realizó una campaña de prospección con sonar de barrido lateral. El equipo acústico utilizado fue el C-Max 800/S Side Scan Sonar, constando de una unidad remolcada y un equipo de superficie instalado a bordo de la embarcación. El equipo remolcado presenta un pez transductor (emisor y receptor) dotado de un cable de fibra óptica. Se estableció un rango de cobertura de 50 m por banda y una separación entre transectos contiguos de 90 m, que aseguran un solapamiento de 10 m dentro del intervalo batimétrico entre la línea de costa y los 10 m.

Una vez cartografiada la costa, para obtener una visión espacial de las comunidades ficológicas presentes con el objetivo de localizar superficies colonizadas de forma masiva y homogénea, se realizaron de forma puntual filmaciones con video. El equipo de filmación consistió en una mini cámara sumergible remolcada. La captura de información va acompañada de un software que permite la selección de fotogramas a partir de las grabaciones en video. En total se realizaron 26 filmaciones puntuales distribuidas a lo largo de todo el litoral granadino.

Para la caracterización de la población ficológica se realizaron muestreos en 40 estaciones, distribuidas homogéneamente sobre los diferentes afloramientos rocosos cartografiados previamente (Fig. 1), mediante un raspado de superficie con cuadrícula 20x20 cm². El material extraído mediante los raspados en cada uno de las muestras, se fijó con etanol al 70% en agua de mar para su posterior análisis.

El procesamiento de las muestras consistió en la identificación de diferentes especies algales por personal experimentado, mediante el empleo de bibliografía y clave dicotómica suministrada por Carlos Romero Zarco de la Universidad de Sevilla. Una vez identificada la muestra se procedió a su pesado (peso húmedo) en báscula de precisión, tras escurrir el agua sobrante y estimar el valor de la biomasa de cada especie.



Figura 1.- Mapa de localización de las zonas muestreadas para el estudio de la flora ficológica de interés comercial de la costa de Granada. Mediterráneo Servicios Marítimo.

RESULTADOS

1. Identificación de las especies de macroalgas con posible interés comercial

En la tabla I se muestra un listado de las principales especies identificadas y su peso húmedo (g).

Tabla I.- Principales especies de algas encontradas en los muestreos.

Especie	Total (g)	Nºzonas	Especie	Total (g)	Nº zonas
<i>Valonia utricularis</i>	7,62	4	<i>Lithophyllum incrustans</i>	269,9	23
<i>Codium vermilara</i>	5,78	2	<i>Corallina mediterranea</i>	206,75	25
<i>Ulva rigida</i>	0,6	8	<i>Asparagopsis armata</i>	183,89	20
<i>Udotea petiolata</i>	0,57	2	<i>Jania rubens</i>	151,98	31
<i>Valonia macrophysa</i>	0,1	3	<i>Peyssonnelia rosa-marina</i>	111,69	22
<i>Bryopsis muscosa</i>	0,005	5	<i>Mesophyllum lichenoides</i>	77,55	11
<i>Halopteris scoparia</i>	1098	30	<i>Gelidium latifolium</i>	34,04	20
<i>Cladostephus spongiosus</i>	46,6	6	<i>Jania nitidula</i>	23,42	4
<i>Halopteris filicina</i>	8,16	4	<i>Halopitys incurvus</i>	15,3	2
<i>Cystoseira caespitosa</i>	4,83	3	<i>Gigartina acicularis</i>	14	17
<i>Dictyopteris membranacea</i>	3	1	<i>Peyssonnelia coriacea</i>	9,95	4
<i>Cutleria multifida</i>	1,3	14	<i>Plocamium cartilageum</i>	1,46	18
<i>Sargassum vulgare</i>	0,48	1	<i>Peyssonnelia squamaria</i>	0,9	1
<i>Dictyota dichotoma</i>	0,27	14	<i>Amphiroa rigida</i>	0,19	7
<i>Dilophus fasciola</i>	0,03	1	<i>Champia parvula</i>	0,08	8
			<i>Polyneura laciniata</i>	0,07	11
			<i>Herposiphonia secunda</i>	0,04	17
Chlorophyta					
Phaeophyta					
Rhodophyta					

Tal y como demuestran los datos la especie mayoritaria, con base en el peso recogido, es *Halopteris scoparia* con más de un kg de biomasa. Le siguen con importante diferencia *Lithophyllum incrustans*, *Corallina mediterranea*, *Asparagopsis armata*, *Jania rubens*, *Peyssonnelia rosa-marina*, *Mesophyllum lichenoides*, *Cladostephus spongiosus* y *Gelidium latifolium*.

1. Estimación de la cobertura específica de las especies más representativa

Dicha cobertura corresponde a la proporción de superficie de terreno ocupada por cada una de las especies. Las muestras presentan valores de cobertura comprendidos entre el 13% y el 100% y un valor medio próximo al 60%. La práctica totalidad de la cobertura queda representada por un grupo de cinco especies dominantes: *Asparagopsis armata*, *Corallina mediterranea*, *Halopteris scoparia*, *Jania rubens* y *Lithophyllum incrustans*, que aparecen de forma mayoritaria en un gran número de estaciones.

2. Estimación del recubrimiento específico

El recubrimiento, a diferencia de la cobertura, es la superficie que ocuparía cada alga si se encontrase totalmente postrada sobre el terreno. Los resultados demuestran, de forma parecida a lo que ocurre con la cobertura, que la mayoría de las observaciones se concentran en un número reducido de especies, siendo éstas, en orden decreciente las siguientes: *Halopteris scoparia*, *Corallina mediterranea*, *Asparagopsis armata*, *Jania rubens*, *Lithophyllum incrustans*, *Gelidium latifolium* y *Peyssonnelia rosa-marina*.

3. Estimación del número de pies

Como estimador de la abundancia sobre el terreno de cada una de las especies, se ha empleado el número de pies (individuos) por metro cuadrado. Los valores más altos de abundancias totales son de 1500 pies/m² mientras que los valores más bajos son de 25 pies/m². La explicación de los valores más bajos hay que buscarla en el efecto provocado por la elevada presión que ejercen los equinodermos sobre las poblaciones algales

4. Estimación de la biomasa

Se realiza un estudio de la biomasa (gr/m²) de las diferentes especies que han podido ser cuantificadas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Con respecto al posible aprovechamiento comercial de las especies localizadas únicamente presentan interés tres de ellas, por sus contenidos en determinadas biomoléculas y por presentar un mayor peso obtenido en los muestreos. De éstas, el mayor peso recolectado lo presenta *Asparagopsis armata* que contiene diversos metabolitos empleados en productos cosméticos como antimicrobianos. Le sigue, muy de lejos en importancia por peso, *Gelidium latifolium* que se emplea como fuente de agar. *Gigartina acicularis* ocupa el tercer puesto en base al peso, siendo empleada como fuente de carragenatos.

Se ha realizado un estudio bibliográfico de las posibles técnicas de obtención de biomasa con fines comerciales de las especies objeto, bien por recolección directa de las poblaciones naturales o por instalación de granjas de cultivo. Pudiéndose caracterizar como especies destacables al objeto de satisfacer las finalidades de este trabajo, las siguientes algas:

❖ *Gelidium latifolium*:

Es la agarófito presente en la zona de estudio con mayores expectativas para el aprovechamiento industrial, sin embargo, los valores observados en el litoral granadino son sensiblemente inferiores a los necesarios para poder realizar una explotación. La obtención de biomasa a partir de cultivos es técnicamente posible (Fredriksen & Rueness, 1989), pero los costes son tan altos que los hace económicamente inviables.

❖ *Gigartina acicularis*:

Aparece en la zona de estudio con tallas muy reducidas lo que impide su recolección. Con respecto al cultivo no existen datos de su viabilidad.

❖ *Asparagopsis armata*:

Está ampliamente distribuida por todo el litoral granadino con abundancias destacadas. No es posible afirmar que su recolección directa del medio pueda ser rentable, ya que no existe explotación comercial a partir de poblaciones naturales con las que poder comparar.

Su cultivo es técnicamente posible y existe una industria que lo está realizando.

ESPECIE	RECOLECCIÓN	CULTIVO
<i>Gelidium latifolium</i>	Inviabile debido a la escasa presencia en el medio	Inviabile. No existen técnicas rentables económicamente
<i>Asparagopsis armata</i>	Posible aunque probablemente inviable económicamente	Viabile. Existe una industria desarrollada
<i>Gigartina acicularis</i>	Inviabile debido a la escasa presencia en el medio.	No descrito

Por tanto podemos concluir que:

Sobre los afloramientos rocosos del litoral granadino existe una población algal típica de comunidades fotófilas infralitorales de modo calmo. La existencia de algas de posible interés comercial detectadas en los muestreos queda reducida a tres especies, debido a la presencia esporádica y puntual o al reducido tamaño del resto que imposibilitan la extracción del medio natural. Son: *Gelidium latifolium*, *Asparagopsis armata* y *Gigartina acicularis*

De éstas sólo *Asparagopsis* muestra la suficiente cantidad como para ser recolectada directamente del medio, aunque no se conoce su viabilidad económica. *Gelidium latifolium* y *Gigartina acicularis* no presentan la suficiente entidad como para hacer posible su cosecha.

Otra posibilidad estudiada mediante bibliografía es la de desarrollar el cultivo en granjas marinas de las especies con mas presencia. Las técnicas desarrolladas hasta la actualidad tan solo permiten la obtención de biomasa, de forma económicamente rentable, de *Asparagopsis armata*. *Gelidium latifolium* no es una especie que presente beneficio en el cultivo y en *Gigartina acicularis* no se han descrito técnicas viables.

Sin embargo, *Asparagopsis armata* no es propia de la flora autóctona del Mediterráneo, por lo que se deberá tener en cuenta a la hora de solicitar autorizaciones para un posible cultivo. Su extracción del medio natural, en caso de resultar rentable, podría considerarse como una acción de lucha contra las especies invasoras.

BIBLIOGRAFÍA

- Calvin J.C. 1995. El ecosistema marino mediterráneo. Guía de su flora y su fauna. Ed. Juan Carlos Calvin. 797pp.
- Cremades Ugarte, J. Departamento de Biología Animal , Biología Vegetal e Ecología.

- Facultade de Ciencias. Univ. Coruña. En <http://uvifan.scai.uma.es/Algasmarrinas.htm>.
- Fredriksen, S. & Rueness, J. (1989). Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. *Botanica Marina* 32: 539-546.
- EPDAP. 2007. Estudio de nuevas experiencias de cultivo en mar abierto en el Mediterráneo. Informe Final. Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero. Consejería Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Robledo D. 1993. Cultivo, adaptación morfológica y fisiopatología de macroalgas marinas de interés industrial. Tesis doctoral. 130pp.
- Seoane-Camba J.A. 1997. *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Thuret. Cultivation in Galicia (Spain). *Lagascalia* 19(1): 179-186.
- Naylor J. 1976. Production, trade and utilization of seaweeds and seaweed products. *FAO Fish. Tech. Pap.* (159):73pp.

ESTUDIO DE FLORA FICOLÓGICA DE INTERÉS COMERCIAL EN LA COSTA DE GRANADA



Norman C¹, Guerrero D¹, Ortega C¹.



¹ Servicio de Desarrollo Pesquero y Acuicola. Delegación Territorial de Granada. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente.

INTRODUCCIÓN

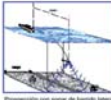
La provincia de Granada presenta una extensión aproximada de 80 kilómetros de costa y una importante tradición pesquera en recesión desde los últimos 20 años. En este contexto se hace necesario la diversificación en la explotación de recursos marinos. Por sus múltiples usos (alimentación en acuicultura, biocombustibles o como base de los productos aditivos intermedios como alginatos o agar) y su fácil cultivo y extracción, las macroalgas ofrecen un interesante potencial. Conscientes de ello, la Delegación Provincial de Agricultura y Pesca de Granada propuso a la Consejería la realización de un "Estudio sobre la Flora Ficológica de Interés Comercial en la Costa de Granada". Este póster pretende difundir el estudio realizado a través de la Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero en pro de la explotación sostenible de tan interesante recurso.

OBJETIVO

Como objetivo principal en dicho Proyecto se plantea la elaboración del catálogo ficológico y la evaluación del posible interés comercial de las especies de macroalgas presentes en el litoral Granadino.

METODOLOGÍA

1. Prospección con sonar de barrido lateral: para identificar afloramientos rocosos de asentamiento de poblaciones ficológicas.
2. Filación con video: de forma puntual para obtener una visión espacial de las comunidades bentónicas presentes.
3. Recogida de muestras: Recogida de 40 muestras (20 x 20 cm²) distribuidas homogéneamente sobre los diferentes afloramientos rocosos cartografiados.
4. Procesamiento de muestras:
 - a. Identificación de las algas presentes.
 - b. Estimación de la biomasa y localización de las poblaciones de interés comercial.



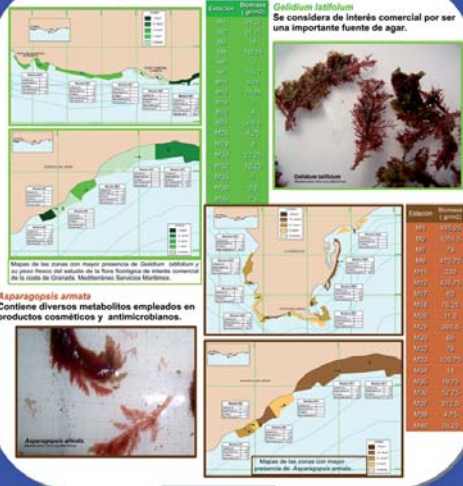
RESULTADOS I

Principales especies encontradas:

Especie	Total (gr)	Nº zonas	Especie	Total (gr)	Nº zonas
<i>Ulva lactuca</i>	7,62	4	<i>Lithothamnion incrustans</i>	259,9	23
<i>Galidium verticillata</i>	5,75	2	<i>Corallina mediterranea</i>	206,75	25
<i>Ulva rigida</i>	0,6	6	<i>Asparagopsis armata</i>	163,59	20
<i>Ulvae peltata</i>	0,57	2	<i>Ulva rubra</i>	151,96	31
<i>Ulvae mamillifera</i>	0,1	3	<i>Physosiphonia roseo-marina</i>	115,69	22
<i>Byssella medusae</i>	0,026	8	<i>Lithothamnion lithoreales</i>	77,05	15
<i>Halidinium scoparium</i>	0,099	30	<i>Galidium latifolium</i>	34,04	20
<i>Chlorella sp.</i>	48,8	6	<i>Ulva rotunda</i>	23,42	4
<i>Halidinium filicin</i>	8,16	4	<i>Halidrys incrustans</i>	16,3	2
<i>Cytosira closterium</i>	4,83	3	<i>Gelidium aciculare</i>	14	12
<i>Codium bursa</i>	3	1	<i>Physosiphonia costata</i>	8,95	4
<i>Gelidium coulteri</i>	1,3	14	<i>Physosiphonia squamaria</i>	0,8	1
<i>Sargassum vulgare</i>	0,48	1	<i>Archimia rigida</i>	0,19	7
<i>Codium dichotoma</i>	0,27	14	<i>Champia parvula</i>	0,08	8
<i>Desmarestia</i>	0,03	1	<i>Physosiphonia lacustris</i>	0,07	11
			<i>Heterosiphonia rosacea</i>	0,04	17
			<i>Callithamnion littoreum</i>	0,02	4
			<i>Ulva lactuca</i>	0,02	3

RESULTADOS II

Estimación de la biomasa y localización geográfica.



Gelidium latifolium
Se considera de Interés comercial por ser una importante fuente de agar.

Asparagopsis armata
Contiene diversos metabolitos empleados en productos cosméticos y antimicrobianos.

DISCUSIÓN

La existencia de algas de posible interés comercial queda reducida a tres especies debido a la presencia esporádica o al reducido tamaño del resto que impide la extracción. Son *Gelidium latifolium*, *Asparagopsis armata* y *Gelidium aciculare*. Las posibilidades técnicas de obtención de biomasa de estas con fines comerciales se representan en la siguiente tabla:

ESPECIE	RECOLECCIÓN	CULTIVO
<i>Gelidium latifolium</i>	Inviabile debido a la escasa presencia en el medio	Inviabile. No hay técnicas rentables económicamente
<i>Asparagopsis armata</i>	Posible aunque probablemente inviable en el medio.	Viable. Existe una industria desarrollada
<i>Gelidium aciculare</i>	Inviabile debido a la escasa presencia en el medio.	No deseable

Tabla de obtención de las posibles moléculas de obtención de biomasa para diferentes especies. Mediterranean Services Maritimes

CONCLUSIONES

Sólo *Asparagopsis* muestra la suficiente cantidad como para ser recolectada directamente del medio aunque no se conoce su viabilidad económica. Además, al ser una especie autóctona su recolección podría considerarse como una acción de lucha contra especies invasoras. En lo referente a su cultivo, las técnicas desarrolladas hasta la actualidad permiten la obtención de biomasa económicamente rentable teniendo siempre en consideración las posibles limitaciones ambientales por tratarse de una especie autóctona.

BIBLIOGRAFIA

1. Cabrita, J. C., 1995. El ecosistema marino mediterráneo. Guía de su flora y su fauna. Ed. Juan Carlos Calvo, 199p.
 2. Oronozco Aguilar, J. Desarrollo de la Biología Marina. Biología Vegetal y Animal. Facultad de Ciencias. Univ. Granada en http://webdms.usg.edu.ec/egm/egm.html
 3. Estudio de nuevas especies de algas del mar abierto de el Mediterráneo. Informe Final. 2007. Empresa Pública de el S.R.P. Consejería Agricultura y Pesca
 4. Ballester, G., 1983. Cultivos algológicos marinos y el cultivo de macroalgas marinas de interés industrial. Tesis doctora. 150p.
 5. Ballester-García, J.A., 1987. *Gelidium aciculare* (Cristó) Thwait. *Gelidium* en Galicia (España). *Agarwalga* 1(6): 179-186.
 6. Ballester, J. (1978). Producción, cultivo and aplicación de algas marinas y su procesamiento. ICAZ. Rep. 200p. 1188p-79p.

Estudio de la actividad enzimática y de la mucosa intestinal en juveniles de dorada alimentados con piensos suplementados con *Scenedesmus almeriensis*

Vizcaino¹ A.J., Jiménez¹ J.A., López¹ G., Barros¹ A., Hidalgo¹ L., Cerón² M.C., Macías-Sánchez² M.D., Martínez¹ T.F., Alarcón¹ F.J.

¹Dpto. Biología y Geología, Universidad de Almería-CEIA₃, Almería, España.

²Dpto. Ingeniería, Universidad de Almería-CEIA₃, Almería, España.

ajvt@hotmail.com

RESUMEN

El empleo de las microalgas en acuicultura tiene un gran potencial debido a la creciente preocupación por que el uso de los recursos naturales sea más sostenible y respetuoso con el medio ambiente. Su aplicación en la alimentación de peces tiene interés desde una doble perspectiva; i) al posibilitar la reducción de las necesidades de harina y aceite de pescado, y ii) al mejorar el estado de condición general de los animales potenciando su capacidad digestiva. En este contexto, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto que ejerce la inclusión de la microalga *Scenedesmus almeriensis* (SC) sobre diversas actividades enzimáticas digestivas asociadas al intestino y sobre la ultraestructura de la mucosa intestinal en juveniles de dorada, *Sparus aurata*. Para ello, 225 ejemplares de dorada se agruparon al azar en cinco grupos de 45 peces y fueron alimentados con 5 piensos experimentales que incluían niveles crecientes de biomasa algal liofilizada (control, SC25, SC37, SC50 y SC75 con una sustitución del 0, 25, 37, 50 y 75% de la proteína de la harina de pescado, respectivamente). Al final del ensayo los peces fueron sacrificados y sus intestinos procesados para, i) obtener extractos enzimáticos en los que cuantificar diversas actividades enzimáticas digestivas, y ii) estudiar la mucosa intestinal mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM). Los resultados obtenidos confirmaron que la utilización de *S. almeriensis* en

la alimentación de esta especie mejora los procesos de digestión y absorción a nivel intestinal al incrementar los niveles de actividad tripsina, fosfatasa alcalina y aminopeptidasa en la luz del sistema digestivo. Se ha comprobado que su uso induce una mejora de la integridad física de la mucosa intestinal aumentando la densidad de las microvellosidades y la superficie de absorción del epitelio intestinal. En base a los resultados se puede concluir que la utilización de biomasa de *S. almeriensis* es recomendable en la alimentación de la dorada por los efectos beneficiosos que produce en su fisiología digestiva.

PALABRAS CLAVE

Dorada, enzimas digestivas, intestino, microalgas, microvellosidades intestinales.

INTRODUCCIÓN

La utilización de microalgas en la alimentación de peces de agua dulce y agua marina ha sido descrita con anterioridad por numerosos autores (Atalah *et al.*, 2007; Dallaire *et al.*, 2007; Hasan y Chakrabarti, 2009). Las microalgas han sido identificadas como un recurso potencial para la alimentación animal debido a su alto contenido proteico con una proporción interesante de aminoácidos esenciales, así como de vitaminas y minerales. En este sentido, las microalgas y sus derivados constituyen una fuente proteica alternativa de interés en producción acuícola (Ehremberg, 1980).

El uso de biomasa algal como sustituto de la harina de pescado en piensos para acuicultura se ha llevado a cabo con éxito en diversas especies de peces como la carpa (Nandeeshha *et al.*, 2001), la tilapia (Isik *et al.*, 1999) y la trucha arcoiris (Dallaire *et al.*, 2007), sin que ello ocasione un efecto negativo sobre el crecimiento de los individuos. En el caso concreto de la dorada, la sustitución parcial de la harina de pescado por biomasa de *S. almeriensis* no sólo no afecta al crecimiento de los juveniles, sino que se obtiene un mayor crecimiento que cuando los peces son alimentados con piensos formulados únicamente con derivados del pescado (Jiménez, 2012).

Las referencias bibliográficas en las que se realizan estudios zootécnicos para evaluar el crecimiento de los peces cuando éstos son alimentados con piensos que incluyen microalgas son abundantes, pero a día de hoy no son tan numerosos los estudios que analizan los efectos que produce la utilización de estos ingredientes sobre la fisiología del pez, y en el caso particular

de los juveniles de dorada, no se tiene conocimiento de que se haya publicado alguno. Es por ello que resulta de particular relevancia analizar qué otros efectos se producen con la utilización de las microalgas en el alimento. Precisamente uno de los aspectos que está relacionado con la alimentación del animal a considerar es el estudio de los procesos que están implicados en la digestión y absorción del alimento. En base expuesto, el objetivo del presente estudio es analizar el efecto que ejerce la inclusión de *S. almeriensis* sobre la actividad de distintas enzimas relacionadas con los procesos digestivos y de absorción de nutrientes a nivel intestinal, y sobre la ultraestructura de la mucosa intestinal de los juveniles de dorada.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANÁLISIS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon 225 juveniles de dorada (*Sparus aurata*), se sometieron a una fase de aclimatación en las instalaciones del acuario de la Universidad de Almería, alimentándolos con un pienso comercial hasta alcanzar los 20g de peso, a continuación se separaron en 15 tanques de polipropileno (15 individuos por tanque) y pasaron a ser alimentados con cinco piensos experimentales suministrados a razón del 3-4% de la biomasa total del tanque al día en dos tomas (9:00 y 13:00). Las condiciones de salinidad y temperatura oscilaron entre el 23-28‰ y los 17-19°C, respectivamente y la duración del bioensayo fue de 60 días.

PIENSOS EXPERIMENTALES

Se elaboraron cinco piensos experimentales, cuatro de ellos suplementados con la harina de la microalga *Scenedesmus almeriensis*, que se denominaron Control, SC25, SC37, SC50 y SC75 con una sustitución del 0, 25, 37, 50 y 75% de la proteína de la harina de pescado por proteína algal, respectivamente. La biomasa algal fue proporcionada por la Estación Experimental “Las Palmerillas” de la Fundación CAJAMAR (La Mojonera, Almería).

OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Los peces se sacrificaron a los 60 días mediante una incisión en la columna vertebral a la altura de los opérculos, previa anestesia con aceite de clavo (20ppm). A cada pez se le extrajo el paquete visceral del cual se separó el intestino obteniéndose, por un lado, muestras para la

preparación de extractos enzimáticos, y de otro, muestras de 0,5 cm de longitud del intestino proximal y distal para su análisis morfológico empleando microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM).

EXTRACTOS ENZIMÁTICOS

Los tejidos de tres peces se agruparon al azar por cada extracto enzimático obteniendo cuatro extractos por cada tanque experimental. Los intestinos se homogenizaron en agua destilada y el homogenado fue sonificado en frío (4°C) mediante tres pulsos cortos de 10 segundos. Seguidamente se centrifugó (12.000 rpm, 12 min, 4°C), y el sobrenadante se repartió en alícuotas para su conservación a -20°C hasta su posterior uso. A estos extractos se les determinó la concentración de proteína soluble, usando seroalbúmina bovina (1mg/mL) como estándar (Bradford, 1976).

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DIGESTIVAS

Las actividades proteasa alcalina, tripsina, quimotripsina y amilasa se cuantificaron como indicadores de la capacidad digestiva, mientras que las actividades leucina-aminopeptidasa y fosfatasa alcalina se analizaron como indicadores de la absorción a través del epitelio. En breve, la actividad proteasa alcalina se determinó empleando una modificación del método de Kunitz (1947), modificado por Walter (1984) usando como sustrato caseína tamponada en Tris-HCl 100mM a pH 9. La mezcla de reacción (extracto enzimático más caseína tamponada) se incubó durante 20 min a 37°C, y la reacción enzimática se detuvo con ácido tricloroacético (TCA) al 20%. La liberación de péptidos se cuantificó determinando la absorbancia del sobrenadante a 280nm. La actividad específica (U/mL) se calculó utilizando como coeficiente de extinción molar de la tirosina (CEM) el valor de 0,008. El resto de actividades se cuantificó mediante cinética midiéndose el incremento de absorbancia en un lector de microplacas a una longitud de onda de 405nm utilizando sustratos específicos para cada una de ellas. Así, se usó *BAPNA* (N-benzoil-DL-arginina-P-nitroanilida) 0,5mM para la cuantificación de la actividad tripsina, *SAPNA* (succinil-(Ala)₂-Pro-Phe-P-nitroanilida) 0,2mM para la actividad quimotripsina, para la actividad amilasa se usó un sustrato comercial *Amylase MR* (CLONATEST, ref. KR10065), para las actividades leucina aminopeptidasa y fosfatasa alcalina, L-leucina p-nitroanilida (LpNa) 2mM y p-nitrofenilfosfato 450mM, respectivamente. La actividad específica (U/mL) se calculó utilizando un valor de CEM de la P-nitroanilida de 8.800 para tripsina, quimotripsina y L-aminopeptidasa y un CEM para el P-nitrofenol de 17.800 para las actividades amilasa y fosfatasa alcalina. Finalmente, todos los valores de actividad obtenidos se expresaron en U/g de tejido.

VISUALIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD PROTEASA MEDIANTE ELECTROFORESIS

Se empleó el método descrito por Laemmli (1970) usando geles de poliacrilamida al 12%. La electroforesis se desarrolló a un voltaje continuo de 100V por gel durante una hora a 4°C. Seguidamente, los geles fueron tratados según se describe en Alarcón *et al.* (1998) con el fin de revelar la actividad proteasa. Los geles se lavaron con agua destilada, se les añadió una solución de caseína al 0,75% preparada en tampón Tris-HCl 50mM a pH 9, se incubaron 30min a 4°C, y después fueron transferidos a una solución fresca del mismo sustrato durante 90min a 37°C. Tras esto, se retiró la solución de caseína, los geles se lavaron con agua destilada y se fijaron con TCA al 12% durante 10 min antes de proceder a su tinción con azul brillante de Comassie (BBC R-250) en una solución con metanol y ácido acético glacial. Para desteñir los geles se empleó la misma solución pero sin colorante. En breve pudo apreciarse una serie de bandas blancas sobre un fondo azul que se corresponden con las fracciones con actividad caseinolítica presentes en los extractos enzimáticos.

EVALUACIÓN DE FACTORES ANTINUTRITIVOS EN LOS PIENSOS EXPERIMENTALES

Se realizaron extractos acuosos de las harinas algales y los piensos (100 mg/mL) con el propósito de extraer los potenciales inhibidores contenidos en ellos. Para analizar la presencia de inhibidores de proteasa, 10µL de un extracto enzimático de referencia se preincubaron durante una hora a temperatura ambiente con 10µL del extracto con potencial efecto inhibidor en 500µL de tampón Tris-HCl 100mM a pH 9 (se incluyó un control enzimático). Finalizado este tiempo, se realizó un ensayo de actividad proteasa alcalina siguiendo el mismo protocolo expuesto con anterioridad. Cada ensayo se realizó por triplicado y con su correspondiente blanco. Los valores obtenidos fueron expresados en porcentaje de actividad residual, utilizando como referencia los valores de absorbancia del ensayo control cuya preincubación se realizó con agua destilada en lugar de con extracto acuoso de alga o pienso.

ANÁLISIS ULTRAESTRUCTURAL Y MORFOMÉTRICO DE LA MUCOSA INTESTINAL

Con el propósito de estudiar el efecto de la suplementación con *S. almeriensis* sobre la estructura de la mucosa intestinal se obtuvieron una serie de imágenes tanto por TEM como por SEM de la zona proximal y distal del intestino. Estas imágenes se analizaron mediante el programa de software libre UTHSCA ImageTool (Universidad de Texas Health Science Center, San Antonio, TX, disponible en el enlace <http://ddsdx.uthscsa.edu>) para conocer y comparar el efecto que produce cada uno de los tratamientos en la superficie de absorción del epitelio intestinal.

Las imágenes TEM proporcionaron información sobre la altura y el diámetro de las microvellosidades, obteniéndose datos de al menos 100 medidas por tratamiento. Por su parte, las SEM proporcionaron información sobre el área apical de los enterocitos, al realizar al menos 50 mediciones por tratamiento.

El análisis ultraestructural permitió estimar la superficie media de absorción por enterocito en los peces de cada tratamiento, así como analizar cuál fue el efecto que produjo el uso de la microalga sobre la integridad física de la mucosa intestinal de los mismos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentan como la media \pm ds. Todos los ensayos enzimáticos se realizaron por triplicado. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Plus 4.0. Los datos que presentaron distribución paramétrica fueron analizados mediante un ANOVA de una vía y sometidos a un test de Tuckey HSD para determinar las diferencias significativas existentes entre los distintos tratamientos ($P < 0,05$), mientras que los datos con distribución no paramétrica se analizaron mediante un test Kruskal-Wallis, y la presencia de diferencias significativas entre medianas se determinó mediante gráficas de cajas y bigotes (Box and Whisker Plots).

RESULTADOS

ESTUDIO DE LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

La inclusión de *S. almeriensis* no ejerció un efecto negativo sobre las actividades enzimáticas estudiadas. En general, los peces alimentados con piensos suplementados con la microalga presentaron niveles de actividad más altos que los peces alimentados con el pienso control, observándose en la actividad tripsina, fosfatasa alcalina y aminopeptidasa, la existencia de diferencias significativas respecto al control (*Tabla 1*). De manera más específica, los individuos alimentados con los piensos SC25 y SC37 mostraron mayores niveles de actividad, destacando la fosfatasa alcalina y la aminopeptidasa en los peces alimentados con SC37, y la tripsina en los alimentados con SC25.

Tabla I. -Actividades enzimáticas digestivas (U/g tejido) en los juveniles de dorada alimentados con piensos que contienen biomasa algal (media \pm ds). En cada fila, los valores con distinto superíndice presentan diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,01$).

Actividad enzimática	Control	SC25	SC37	SC50	SC75
Capacidad digestiva					
Proteasa alcalina (x1000)	2,13 \pm 0,47	2,26 \pm 0,54	2,38 \pm 0,864	2,23 \pm 0,673	2,79 \pm 0,659
Tripsina	0,20 \pm 0,03 ^b	0,25 \pm 0,03 ^a	0,21 \pm 0,04 ^{ab}	0,23 \pm 0,04 ^{ab}	0,23 \pm 0,04 ^{ab}
Quimotripsina	5,05 \pm 1,99	6,67 \pm 0,98	5,31 \pm 1,46	5,57 \pm 0,88	5,56 \pm 1,61
Amilasa	1,77 \pm 0,87	1,77 \pm 0,31	1,96 \pm 0,44	1,79 \pm 0,48	2,06 \pm 0,50
Capacidad de absorción					
Leucina aminopeptidasa	0,77 \pm 0,10 ^c	1,05 \pm 0,25 ^{ab}	1,10 \pm 0,43 ^a	0,92 \pm 0,13 ^{ab}	0,72 \pm 0,19 ^c
Fosfatasa alcalina	29,33 \pm 5,13 ^b	33,13 \pm 9,76 ^{ab}	38,62 \pm 9,70 ^a	29,88 \pm 4,74 ^{ab}	23,87 \pm 4,56 ^b

Con el propósito de visualizar las distintas fracciones activas con actividad proteolítica presentes en los extractos intestinales se realizó un zimograma que permitió apreciar si la inclusión de harina algal modificó el patrón de proteasas alcalinas en los peces. Los resultados obtenidos evidenciaron que en todos los peces aparecía un patrón similar de proteasas intestinales, caracterizado por cinco bandas claramente visibles con actividad proteolítica (Fig. 1).

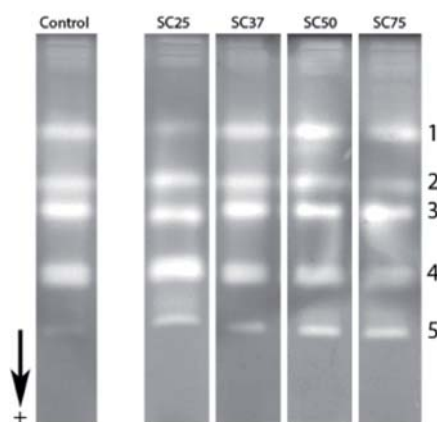


Figura 1.- Substrato-SDS-PAGE de los extractos intestinales de los juveniles de *S. aurata* alimentados con piensos que incluyen distinta proporción de harina algal. En cada carril se incluyeron 2 unidades de actividad proteasa alcalina de un extracto enzimático elaborado a partir de los tejidos de 3 peces distintos de un mismo tratamiento.

ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE FACTORES ANTINUTRITIVOS EN LA HARINA ALGAL Y PIENSOS EXPERIMENTALES

Los resultados obtenidos en el ensayo de inhibición mostraron que tanto la microalga como los piensos no contienen sustancias que tengan la capacidad de inhibir a las proteasas digestivas de los ejemplares juveniles de dorada (Fig. 2). Además, este resultado corrobora el hecho de que en el zimograma del apartado anterior no se evidencie alteración alguna *in vivo* del patrón de bandas característico de esta especie con ninguno de los piensos ensayados.

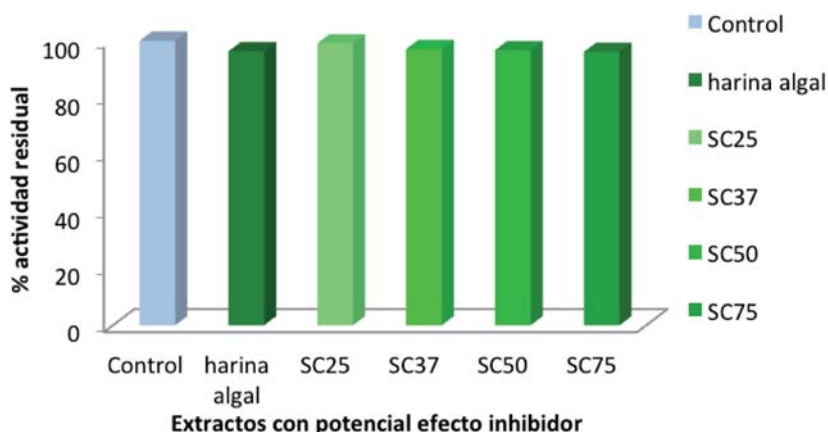


Figura 2. -Actividad residual de los extractos enzimáticos de dorada tras su incubación con extractos acuosos de la harina algal y de los piensos experimentales.

ESTUDIO DE LA ULTRAESTRUCTURA DE LA MUCOSA INTESTINAL

La figura 3 muestra algunas de las imágenes TEM y SEM obtenidas del intestino proximal de los juveniles de *S. aurata*. Las imágenes mostraron la existencia de diferencias en la altura de las microvellosidades intestinales concretamente en los peces de los tratamientos SC37, en los que la altura fue casi del doble que la presente en los peces de los demás tratamientos. También se apreciaron diferencias significativas en la superficie apical de los enterocitos, que fue mayor en los animales alimentados con los piensos SC37 (Fig. 3).

La figura 4 muestra algunas de las microfografías TEM y SEM obtenidas de la mucosa de intestino distal. En este caso no se encontraron diferencias entre tratamientos, a excepción del grupo SC75 en el que los peces mostraron mayor altura en sus microvellosidades. Por su parte, en el grupo SC37 se aprecia que la superficie apical de los enterocitos es algo mayor que en los peces del Control.

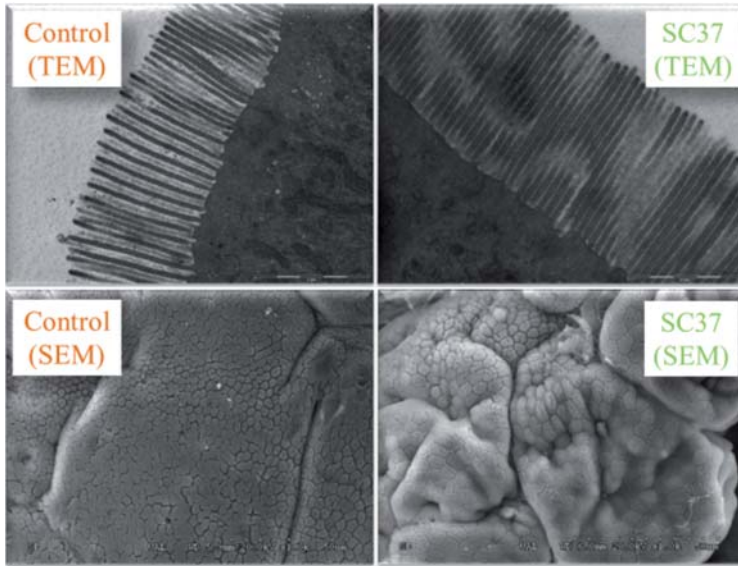


Figura 3.- Detalle de las microvellosidades intestinales (TEM) y de la cara apical de los enterocitos (SEM) del intestino proximal de los juveniles de dorada. (En el margen inferior derecho se indica la escala de cada imagen).

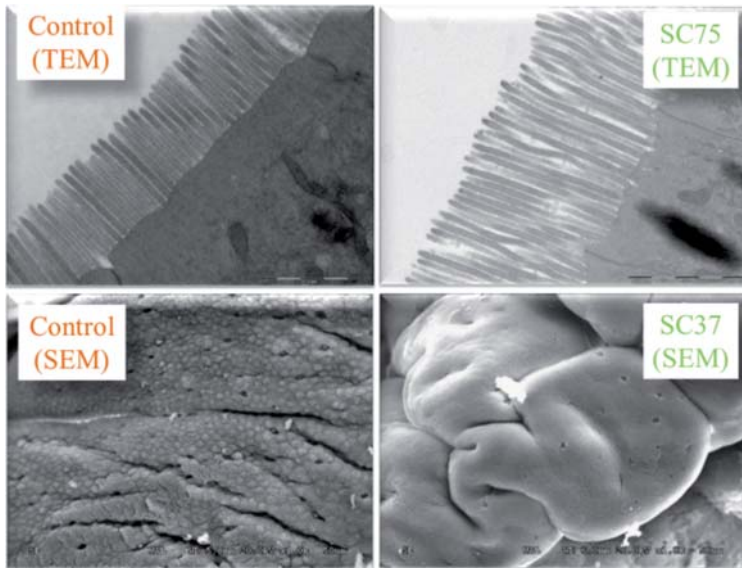


Figura 4.- Detalle de las microvellosidades intestinales (TEM) y de la cara apical de los enterocitos (SEM) del intestino distal de los juveniles de dorada. (En el margen inferior derecho se indica la escala de cada imagen).

La tabla II recoge los resultados del análisis morfométrico efectuado a partir de las imágenes de intestino proximal. En general, los peces alimentados con microalgas presentaron mayor altura y diámetro en sus microvellosidades intestinales, y sus enterocitos fueron de mayor tamaño. De igual forma, la superficie de absorción por enterocito fue significativamente mayor en los peces alimentados con microalgas que en los animales del control. En particular, los peces de los grupos SC37 y SC75 presentaron los valores más altos llegando a superar de forma notable los valores obtenidos con el pienso Control.

Al igual que en el caso anterior se estimaron la altura, diámetro, superficie apical de los enterocitos y superficie de absorción por enterocito en la porción distal de intestino (Tabla III). En general, no se encontraron diferencias significativas en la altura y diámetro de las microvellosidades, a excepción de los tratamientos SC27 y SC75 que presentaron los valores mayores en el diámetro y altura de las microvellosidades, respectivamente. En cualquier caso, los peces alimentados con microalgas presentaron valores significativamente más altos en el área apical y en la superficie de absorción de los enterocitos que en el tratamiento Control ($P < 0,01$).

La utilización de *S. almeriensis* incrementó la superficie de absorción de la mucosa intestinal. El valor máximo se alcanzó con SC37 en el intestino proximal, en tanto que en el distal el máximo se encontró en los peces alimentados con SC25.

Tabla II.- Resultados (media \pm ds) del análisis morfométrico efectuado en la mucosa del intestino proximal a partir de las imágenes TEM y SEM. Los valores con distinto superíndice indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,01$).

Parámetros	Control	SC25	SC37	SC50	SC75
Altura microvilli (μm)	2,07 \pm 0,25 ^b	1,83 \pm 0,17 ^c	2,64 \pm 0,66 ^a	1,57 \pm 0,09 ^d	1,95 \pm 0,50 ^c
Diámetro microvilli (μm)	0,09 \pm 0,01 ^d	0,12 \pm 0,01 ^b	0,12 \pm 0,01 ^b	0,14 \pm 0,01 ^a	0,10 \pm 0,01 ^c
Área apical enterocito (μm^2)	11,3 \pm 4,0 ^c	18,9 \pm 5,2 ^b	28,8 \pm 4,1 ^a	14,2 \pm 3,8 ^c	20,6 \pm 3,1 ^b
Superficie absorción enterocito (μm^2)	693,9 \pm 82,0 ^d	769,2 \pm 72,2 ^c	1522,6 \pm 379,6 ^a	414,1 \pm 23,6 ^c	1014,1 \pm 256,9 ^b

Tabla III.- Resultados (media \pm ds) del análisis morfométrico efectuado en la mucosa del intestino distal a partir de las imágenes TEM y SEM. Los valores con distinto superíndice indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,01$), nd (valores no determinados).

Parámetros	Control	SC25	SC37	SC50	SC75
Altura microvilli (μm)	1,42 \pm 0,16 ^b	1,27 \pm 0,10 ^c	1,49 \pm 0,22 ^b	1,24 \pm 0,13 ^c	2,09 \pm 0,38 ^a
Diámetro microvilli (μm)	0,12 \pm 0,02 ^b	0,10 \pm 0,01 ^c	0,13 \pm 0,01 ^a	0,11 \pm 0,01 ^b	0,11 \pm 0,01 ^b
Área apical enterocito (μm^2)	9,02 \pm 2,65 ^c	15,16 \pm 2,39 ^a	14,24 \pm 2,49 ^a	10,86 \pm 1,78 ^b	nd
Superficie absorción enterocito (μm^2)	257,7 \pm 28,8 ^d	531,1 \pm 39,4 ^a	444,1 \pm 65,0 ^b	308,2 \pm 30,5 ^c	nd

DISCUSIÓN

El nivel de actividad de diversas enzimas digestivas ha sido empleado como un indicador para estimar la capacidad digestiva en peces de acuicultura (Alarcón *et al.*, 1998). En el presente estudio se comprueba que la utilización de *S. almeriensis* no produce ningún efecto negativo sobre las actividades enzimáticas analizadas, sino todo lo contrario ya que en algunas de ellas se incrementa significativamente el nivel de actividad respecto al grupo control (peces alimentados sin microalga). Tal es el caso de la tripsina, que es una enzima clave en los procesos de digestión de proteína y como enzima activadora de otras enzimas proteolíticas. De igual forma, las actividades aminopeptidasa y fosfatasa alcalina, localizadas fundamentalmente en la membrana del borde en cepillo de la superficie de los enterocitos y que están implicadas en las etapas finales de hidrólisis y absorción de los nutrientes, también se incrementan significativamente con la inclusión de microalga en el alimento. Resulta evidente que la combinación de ambos efectos determina una mejor eficiencia de los procesos de digestión y absorción que tienen lugar a nivel intestinal. De este modo la mayor tasa de crecimiento descrita en los juveniles de esta misma especie por Jiménez (2012) cuando son alimentados con *S. almeriensis* podría estar relacionada con una mejor eficiencia en la utilización del alimento como consecuencia del incremento del nivel de actividad de algunas de las enzimas implicadas en el proceso digestivo.

Otro aspecto a tener en cuenta cuando se utilizan ingredientes alternativos a la harina de pescado es la presencia de factores antinutritivos que puedan interferir con los procesos de digestión y absorción que tienen lugar en el tracto digestivo (Alarcón *et al.*, 1999). Considerando el papel que tiene la proteína en la alimentación de los peces de acuicultura,

los más importantes son los inhibidores de proteasas ya que tienen la capacidad de inhibir a las enzimas proteolíticas. De hecho en algunas algas marinas se ha descrito la presencia de inhibidores de tripsina y amilasa (Oliveira *et al.*, 2009). No obstante, en base a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede descartar la presencia de inhibidores de proteasa en la biomasa de *S. almeriensis* y en los piensos formulados con ella. Por un lado, en el zimograma se comprueba que los peces de todos los tratamientos presentan el mismo patrón de enzimas, y de otro, en el ensayo de inhibición *in vitro* se confirma la ausencia de inhibidores de proteasa tanto en los piensos experimentales como en la harina algal.

Además de las actividades enzimáticas digestivas, la morfología y la estructura de la mucosa intestinal cumplen una función muy importante para el correcto desarrollo de los individuos aumentando la superficie de absorción de nutrientes y proporcionando una barrera física frente a la acción de potenciales microorganismos patógenos que circulan por la luz del tubo digestivo. En este sentido, Merrifield *et al.* (2009) describen que en ejemplares de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) la inclusión de harina de soja provoca alteraciones en los enterocitos, disminuyendo de la longitud, grosor y densidad de las microvellosidades lo que a su vez incrementa la exposición de los enterocitos frente a los patógenos, y disminuye la eficacia del epitelio como barrera defensiva. Sin embargo, en el presente estudio se confirma que el empleo de *S. almeriensis* no ejerce efectos negativos sobre la ultraestructura de la mucosa intestinal, sino todo lo contrario. Además, en los juveniles dorada se produce un incremento tanto en la altura como en la densidad de las microvellosidades, fenómeno que determina una mejora en la contribución de la mucosa intestinal como barrera física. Por su parte, el incremento de la superficie apical de los enterocitos se puede traducir, desde una perspectiva nutricional, como un incremento en la capacidad de absorción de nutrientes a través de la mucosa intestinal. De esta manera, la utilización de biomasa de *Scenedesmus almeriensis* tiene un enorme interés aplicado en la formulación de alimentos para juveniles de dorada por los efectos beneficiosos que produce en su fisiología digestiva.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por el Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía AGR5334, el proyecto AGL2010-20052 y los fondos FEDER. Parte del desarrollo experimental se ha realizado en las instalaciones del Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA₃) de la Universidad de Almería. Especial agradecimiento a la Fundación CAJAMAR.

BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón F.J., Díaz M., Moyano F.J., Abellán E. 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead seabream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemistry* 19:257–267.
- Alarcón F.J., Moyano F.J., Díaz M. 1999. Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparus aurata*). *Aquatic Living Resources* 12:233-238.
- Atalah E., Hernández-Cruz C.M., Izquierdo M.S., Rosenlund G., Caballero M.J. 2007. Two microalgae *Cryptocodinium cohnii* and *Phaeodactylum tricorutum* as alternative source of essential fatty acids in starter feeds for seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 270: 178-185.
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.
- Dallaire V., Lessard P., Vandenberg G., de la Noüe, J. 2007 Effect of algal incorporation on growth, survival and carcass composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Bioresource Technology* 98: 1433–1439.
- Ehrember M. 1980. Microalgae: a fish faro feed for the future. *Fish Farming International* 7: 15-18.
- Isik O., Sarihan E., Kusvuran E., Gul O., Erbatur O. 1999. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. *Aquaculture* 174: 299-311.
- Jiménez J.A. 2012. Utilización de *Scenedesmus almeriensis* como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en piensos para juveniles de dorada, *Sparus aurata*. Proyecto Fin de Carrera. Universidad de Almería, España. 104 p.
- Kunitz M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *Journal of General Physiology* 30: 291–310.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685.
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Bradley G., Baker R.T.M., Davies, S.J. 2009. Soybean meal alters autochthonous microbial populations, microvilli morphology and

- compromises intestinal enterocyte integrity of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 32: 755–766.
- Nandeesh M.C., Gangadhara B., Manissery J. K., Venkataraman, L.V., 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. *Bioresource Technology* 80: 117-120.
- Oliveira M.N., Ponte-Freitas A.L., Urano-Carvalho A.F., Taveres-Sampaio T.M., Farias D.F., Alves-Teixeira D.I., Gouveia, S.T., Gomes-Pereira, J., Castro-Catanho de Sena, M.M. 2009. Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará, Brazil. *Food Chemistry* 11: 254-259.
- Walter H.E. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. En: *Methods of Enzymatic Analysis*. H.J. Bergmeyer (ed), 5: 270–277. VerlagChemie, Weinham.

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y LA MUCOSA INTESTINAL EN JUVENILES DE DORADA ALIMENTADOS CON PIENSOS SUPLEMENTADOS CON *Scenedesmus almeriensis*



A.J. Vizcaino¹, J.A. Jiménez¹, A. Barros¹, L. Hidalgo¹, M.C. Cerón², M.D. Macías-Sánchez², T.F. Martínez¹ y F.J. Alarcón¹

Dpto. Biología Aplicada, ¹Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Almería. Ctra. Sacramento s/n, 04120 Almería. e-mail: f.alarcon@ual.es



INTERÉS DEL USO DE LAS MICROALGAS EN ACUICULTURA

- ✓ Reducción de las necesidades de harina y aceite de pescado
- ✓ Mejora del estado de condición general de los animales:
 - Incrementa la resistencia frente a patógenos
 - Potencia la capacidad digestiva de los peces



Piensos con *Scenedesmus almeriensis*

Piensos control

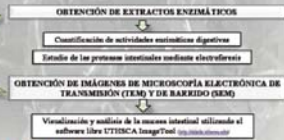
En el presente estudio se evalúa el efecto que ejerce la utilización de la microalga *Scenedesmus almeriensis* (SC) en la fisiología digestiva de los juveniles de dorada (*Sparus aurata*) por dos aproximaciones distintas:

- Cuantificación de las actividades enzimáticas intestinales.
- Estudio de la ultraestructura del epitelio intestinal.

METODOLOGÍA UTILIZADA



Con pinzas se extraen los intestinos de los peces.



¿QUÉ EFECTOS INDUCE LA INCLUSIÓN DE *S. almeriensis* SOBRE LA FISIOLÓGIA DIGESTIVA?

EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

Tabla 1. Actividades enzimáticas (U/g y tejido) en juveniles de dorada (media ± error estándar).

Actividad	Control	SC25	SC37	SC50	SC75
Proteasa (ALCAIN) (U/g)	2,13 ± 0,47	2,26 ± 0,54	2,38 ± 0,864	2,23 ± 0,673	2,79 ± 0,659
Tripsina	0,20 ± 0,03 ^a	0,25 ± 0,03 ^a	0,21 ± 0,04 ^a	0,23 ± 0,04 ^a	0,23 ± 0,04 ^a
Quimotripsina	5,05 ± 1,99	6,67 ± 0,98	5,31 ± 1,46	5,57 ± 0,88	5,56 ± 1,61
Amilasa	1,77 ± 0,87	1,77 ± 0,31	1,96 ± 0,44	1,79 ± 0,48	2,06 ± 0,50
Amilasa (amilopectina)	0,77 ± 0,10 ^a	1,05 ± 0,25 ^a	1,10 ± 0,43 ^a	0,92 ± 0,13 ^a	0,72 ± 0,13 ^a
Fosfatasa alcalina	29,33 ± 5,13 ^a	33,13 ± 9,76 ^a	38,62 ± 9,70 ^a	29,88 ± 4,74 ^a	23,87 ± 4,50 ^a

En cada fila, los valores con distinto superíndice presentan diferencias significativas entre tratamientos (P < 0,01).

- Los peces alimentados con piensos suplementados con *S. almeriensis* presentaron niveles de actividad más altos que los ejemplares alimentados con el pienso control.
- Los individuos que consumieron SC25 y SC37 mostraron un mayor nivel de actividad, destacando las actividades fosfatasa alcalina y amilopeptidasa en SC37, y la tripsina en SC25.

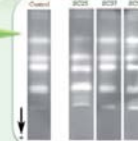


Figura 1. Zimograma de la actividad proteasa alcalina. ● Todos los grupos experimentales presentaron un patrón similar de proteasas intestinales caracterizado por cinco bandas activas. ● La harina algal no contiene inhibidores de proteasa que afecten a las proteasas intestinales de dorada.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE LA MUCOSA INTESTINAL

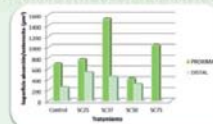
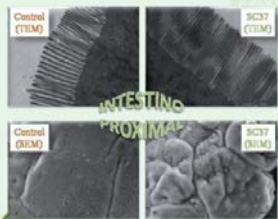


Figura 2. Influencia de *S. almeriensis* sobre la superficie de absorción del intestino proximal y distal.

- La inclusión de *S. almeriensis* produce un aumento de la superficie de absorción de la mucosa en el intestino proximal y distal.
- En el intestino proximal el mayor incremento de la superficie de absorción se alcanzó con SC37, en tanto que para el distal fue con SC25.

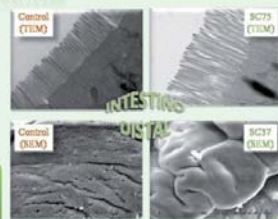


Tabla 2. Resultados del análisis morfométrico efectuado en la mucosa del intestino proximal.

Parámetro	Control	SC25	SC37	SC50	SC75
Área microvascular (µm²)	2386,2 ^a	3286,2 ^a	3286,2 ^a	3286,2 ^a	2286,2 ^a
Superficie microvascular (µm²)	4286,2 ^a	4286,2 ^a	4286,2 ^a	4286,2 ^a	4286,2 ^a
Área del microvaso (µm²)	1286,2 ^a	1286,2 ^a	1286,2 ^a	1286,2 ^a	1286,2 ^a
Superficie absorción/arteriolo (µm²)	286,2 ^a	286,2 ^a	286,2 ^a	286,2 ^a	286,2 ^a

Los valores con distinto superíndice indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0,01).

Tabla 3. Resultados del análisis morfométrico efectuado en la mucosa del intestino distal.

Parámetro	Control	SC25	SC37	SC50	SC75
Área microvascular (µm²)	3286,2 ^a	3286,2 ^a	3286,2 ^a	3286,2 ^a	3286,2 ^a
Superficie microvascular (µm²)	4286,2 ^a	4286,2 ^a	4286,2 ^a	4286,2 ^a	4286,2 ^a
Área del microvaso (µm²)	1286,2 ^a	1286,2 ^a	1286,2 ^a	1286,2 ^a	1286,2 ^a
Superficie absorción/arteriolo (µm²)	286,2 ^a	286,2 ^a	286,2 ^a	286,2 ^a	286,2 ^a

Los valores con distinto superíndice indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0,01).

La inclusión de *S. almeriensis* no induce efectos negativos sobre las actividades enzimáticas estudiadas y mejora la integridad física de la mucosa intestinal favoreciendo los procesos digestivos a nivel intestinal y proporcionando una barrera física frente al ataque de patógenos.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido subvencionado por el Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía AGR534 y los fondos FEDER. Los piensos han sido elaborados en el Servicio de Piensos Experimentales UAL-CEIA.

Estudio sobre la incorporación al Mar de Alborán de nuevas especies ictiológicas de interés comercial

Norman¹ C., Garrido² A., Hidalgo³ F.

¹Servicio de Desarrollo Pesquero. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Edif. Administrativo Almanjayar. C/ Joaquina Eguaras, 2. 18071 Granada, España.

²AGAPA-IAMED. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. C/ Marie Curie 35. (Parque Tecnológico de Andalucía). 29590 Campanillas, Málaga, España.

³Dpto. Biología Animal. Universidad de Granada. Avda. Severo Ochoa s/n. 18071 Granada, España.

josec.norman@juntadeandalucia.es

INTRODUCCIÓN

El Mediterráneo es un mar interior, situado en el hemisferio norte, que linda con territorios en Europa, Asia y África. Sus aguas representan aproximadamente el 1% de la superficie total de agua del mar. Con una superficie de unos 2.510.000 km²., tiene una longitud de 800 km de norte a sur y de 3.860 km. de este a oeste. La barrera tectónica subterránea existente desde Túnez a Sicilia, divide el Mediterráneo en dos cuencas: la oriental y la occidental. A su vez, está subdividido en pequeños mares: el mar de Alboran, el Mar Menor, el Mar Baleárico, el Mar Sardo, el Mar Tirreno, el Adriático, el Jónico, el Egeo y el mar de Libia.

A pesar de ser un mar interior, el Mediterráneo no está aislado. Se comunica con el Océano Atlántico a través del estrecho de Gibraltar, un paso estrecho 12,8 km de longitud y con una profundidad de 300 m. En el noreste se comunica con el mar de Mármara a través del estrecho de Dardanelos, con 61 km de ancho y una profundidad máxima de 82 m. En el sureste, conecta con el Canal de Suez que permite la comunicación con el Mar Rojo y con los mares Indopacíficos. Su ubicación y características fisicoquímicas y biogeográficas, hacen

del mar Mediterráneo un espacio altamente susceptible a las invasiones biológicas. Y así, es cada vez más común encontrar especies de plantas exóticas, invertebrados (moluscos, crustáceos) y vertebrados (peces cartilagosos y óseos) en sus hábitats litorales. El canal de Suez y el estrecho de Gibraltar sirven como puertas de entrada de estas especies procedentes del mar rojo, del Océano Índico y del Océano Atlántico. Su emplazamiento geográfico, la navegación internacional, la acuicultura marina y el calentamiento global, son los 4 principales factores que determinan la llegada de especies exóticas al mar Mediterráneo. Excepto en la conexión natural del Mediterráneo con el Atlántico a través del estrecho de Gibraltar, podemos ver que la actividad humana siempre aparece como catalizador de estos factores.

Aunque existen diferentes definiciones del concepto de “especie exótica”, la comunidad científica está de acuerdo en destacar que las especies son exóticas cuando se encuentran en un punto distinto de su lugar de origen. Según la Unión Internacional para la conservación de la naturaleza (UICN) una especie, subespecie o taxón inferior de flora o fauna, se considera exótico cuando se encuentra fuera de su rango natural. Por otra parte, la FAO define “exótico” a la especie que no es nativa de la región en que se localiza. En las primeras etapas de la colonización de nuevas áreas por las especies exóticas, se pasa por tres etapas distintas, aunque no todas las especies tienen por que concluir esta secuencia. Estas etapas son: introducción, establecimiento e invasión. Se entiende como introducción el paso de una especie de su lugar de origen a otro diferente, movimiento provocado por la acción humana o por la capacidad de movimiento y dispersión de la propia especie. En segundo lugar, esta especie puede asentarse en su nuevo hábitat o no, dependiendo de muchos factores (dieta, temperatura del agua, salinidad, presencia de otros conespecíficos para reproducirse, depredadores y algunos otros factores adicionales). Por último, tras la introducción y el establecimiento de una especie, ésta podría migrar a un área donde produzca daños a las poblaciones autóctonas. La mayoría de las especies exóticas no llega a asentarse en nuevas localizaciones, sin embargo un pequeño porcentaje puede instalarse, alterar el ecosistema que las acoge y provocar lo que se denomina una invasión que produzca alteraciones significativas y/o desplace o reduzca las poblaciones nativas (Williamson, 1996).

Actualmente hay 558 especies exóticas en el mar Mediterráneo y cada año se alcanza un promedio de 10 nuevas especies en el Mediterráneo (Galil, 2008). Desde la publicación del Atlas CIESM en 2004 han sido registradas en el Mediterráneo 18 nuevas especies. En 2007, se contabilizó un total de 108 taxones de 68 familias diferentes, lo cual representa un incremento del 20% cada 4 años (Golani *et al.*, 2007). Conscientes de ello, la Delegación Provincial de Agricultura y Pesca de Granada propuso a la Consejería la realización de un “Estudio sobre las especies ictiológicas exóticas de Interés pesquero que se estaban incorporando al Mediterráneo occidental”. El principal objetivo de este trabajo era catalogar y comprender la situación actual de las especies exóticas en el Mediterráneo andaluz y detectar

las posibles consecuencias para la pesca comercial de nuestra costa. Este póster pretende difundir el estudio realizado a través de la Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero en pro de acrecentar el conocimiento sobre estos peces.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se encuentra en el Mar de Alboran. Esta área incluye el litoral Mediterráneo andaluz de las provincias de Almería, Granada, Málaga y una pequeña parte de la provincia de Cádiz. Los tramos costeros correspondientes a las provincias son: Almería 214,83 km, Málaga 163,78 km y Granada 75,83 km. Este área marina representa una zona de transición hacia el Atlántico y, en el estrecho de Gibraltar hay intrusión de agua con menor salinidad a través de una corriente superficie actual que entra desde el Atlántico y, que compensa la pérdida por evaporación y el flujo subyacente de agua de salida mediterránea a través del estrecho con una salinidad más elevada.

En primer lugar se ha realizado una extensa revisión de la literatura científica relacionada con la presencia de especies exóticas en la cuenca mediterránea y específicamente en la costa mediterránea de Andalucía. Han sido consultadas fuentes como la base de datos de la CIESM, ICTIMED, ERMS (Registro europeo de especies marinas), DAISIE, MarBEF (Biodiversidad Marina Europea), Worms (Registro mundial de especies marinas) y otras bases de datos bibliográficas como Cybium Zoological record. Además se han realizado contactos con científicos y expertos europeos en este campo para la verificación de ciertos datos históricos. La información obtenida a partir de la revisión bibliográfica ha sido organizada en una serie de fichas que incluyen los siguientes datos relativos a las especies exóticas citadas en el Mediterráneo occidental:

Nombre científico: nombre compuesto por el género y especie seguido del autor. Es la referencia válida que se ha utilizado en este trabajo.

Nombre común: nombre vulgar de la especie en castellano.

Código FAO: código único y específico para cada especie, compuesto generalmente por tres letras en mayúscula. No todas las especies lo poseen.

Fórmula radial: esquema de los caracteres merísticos de la especie, es decir, número de radios, espinosos y flexibles en cada aleta. Los radios espinosos se expresan en cifras romanas y los radios flexibles o segmentados se expresan en cifras arábigas. Pueden incluir

las siguientes abreviaturas: D: dorsal; A: anal; V: ventral; P: pectoral; C: caudal.

Características descriptivas: características morfológicas de la especie, incluye el color y la talla.

Hábitat y ecología: localización y profundidad a la que se encuentra la especie.

Distribución natural: distribución geográfica natural de la especie.

Vía de entrada al Mediterráneo: vía de entrada de la especie al Mediterráneo.

Localizaciones: localizaciones en el Mediterráneo citadas a lo largo de los años.

Observaciones: consideraciones a destacar.

Después de esta fase de recopilación de la información se instalaron en cada uno los puertos elegidos para los muestreos (Estepona, Caleta de Vélez, Motril y Almería) unos congeladores con una capacidad de 100 litros destinados a mantener congeladas las muestras recogidas por el sector durante los lances de pesca o bien durante las subastas. Esta acción de colaboración con el sector pesquero también incluía la distribución de un cartel informativo a los pescadores y jefes de lonja, con el objetivo de que lo utilizaran como referencia y guía para la identificación visual de algunas especies exóticas. El cartel informativo se confeccionó sobre la base de las fichas obtenidas de la revisión documental. La recogida de muestras se completaba con visitas semanales a la subasta para la observación de las capturas desembarcadas y la colección de las especies depositadas en los congeladores.

También se han realizado embarques. La modalidad escogida para los embarques ha sido el arrastre, por ser la que mayor volumen de capturas realiza (comercial y descarte) realiza y por faenar en gran variedad de zonas de pesca y diferentes fondos. La recogida de muestras a bordo de buques se realizó una periodicidad mensual, aunque en determinados casos no ha sido posible debido a las condiciones climatológicas adversas y en otros casos, debido a la parada biológica de la flota en Almería y Granada durante los meses de marzo y abril. Los embarques además de proporcionar la toma de diferentes datos (hora de firme, latitud, longitud, profundidad, velocidad, hora, latitud y longitud de virada, velocidad y profundidad) posibilitan la observación in situ de las capturas totales, tanto comerciales como de descartes entre las que puede ser posible identificar especies exóticas que aparezcan de forma frecuente y/o que no llamen la atención de la tripulación para ser seleccionada y depositada en los arcones congeladores. Toda la información recogida sirve para determinar tanto la presencia como la ausencia de especies exóticas en las zonas muestreadas. Para la toma de datos de posición se ha utilizado un GPS Garmin modelo eTrex Legend HCx. Posteriormente

esta información es volcada al ordenador para ser representada mediante SIG (Sistema de Información Geográfica).

Finalmente con todas las muestras obtenidas tanto de las lonjas como de los barcos se procedía a la determinación de la especie, se recogían una serie de parámetros biométricos como son la longitud total (mm.) y el peso (g.) de cada una de las especies, posteriormente se fotografiaban, y se introducían en bolsas identificadas con el lugar de captura, zona y fecha para concluir con su almacenamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los documentos examinados por la revisión bibliográfica se han encontrado un total de 20 especies exóticas litoral Mediterráneo andaluz (Tabla 1). De estas especies únicamente el 5% se ha introducido en nuestro litoral por el Canal de Suez (especies Lesepsianas¹), siendo su origen Indo-Pacífico. En concreto, se trata de la corneta pintada (*Fistularia commersonii*), un taxón del grupo de los peces óseos que fue citado en la costa de Almuñecar en noviembre de 2007 a profundidades comprendidas entre 5 y 15 metros sobre fondos rocosos (Sánchez-Tocino *et al.*, 2007). Su presencia en el litoral de la Península Ibérica, próxima al Estrecho de Gibraltar, siete años después de su primera cita en el Mediterráneo, confiere a esta especie una capacidad de colonización muy elevada, pudiéndose convertir en la primera en realizar una colonización trans-mediterránea, desde el Océano Indico al Atlántico. Por otro lado, el 95% de las especies se han introducido en el Mediterráneo a través del Estrecho de Gibraltar. Este 95% se encuentra representado por 19 especies pertenecientes a dos clases diferentes: condriictios o elasmobranquios y osteíctios o peces óseos. La única familia de condriictios, es la Carcharhinidae, dentro de la que se distinguen 3 especies exóticas, el tiburón baboso, la jaqueta y el tiburón tigre. Dentro de las especies exóticas que pertenecen a la clase osteíctios se diferencian 11 familias diferentes con un total de 15 representantes.

Tabla I.- Especies exóticas de la revisión bibliográfica.

Clase	Familia	Especies		Via de entrada	Primer registro
		Nombre científico	Nombre común		
Condrictios	Carcharhinidae	<i>Carcharhinus altimus</i>	Tiburón baboso	Estrecho de Gibraltar	1983 Alborán
		<i>Carcharhinus falciformis</i>	Jaqueta	Estrecho de Gibraltar	1987 Alborán
		<i>Galeocerdo cuvier</i>	Tiburón tigre	Estrecho de Gibraltar	1994 Málaga
Osteictios	Fistularidae	<i>Fistularia commersonii</i>	Corneta pintada	Canal de Suez	2000 Israel
		<i>Fistularia petimba</i>	Corneta colorada	Estrecho de Gibraltar	1997 Cádiz
	Sebstidae	<i>Trachyscorpia cristulata echianta</i>	Rascacio espinoso	Estrecho de Gibraltar	1962 Cádiz
	Carangidae	<i>Seriola fasciata</i>	no posee	Estrecho de Gibraltar	1989 Baleares
	Mullidae	<i>Pseudupeneus prayensis</i>	Salmonete barbudo	Estrecho de Gibraltar	1987 Málaga
	Sparidae	<i>Diplosu bellottii</i>	Raspallón senegalés	Estrecho de Gibraltar	1981 Málaga
		<i>Pagellus bellottii</i>	Breca mora	Estrecho de Gibraltar	1960 Marruecos y Argelia
	Labridae	<i>Centrolabrus exoletus</i>	Centrolabro	Estrecho de Gibraltar	1981 Málaga
	Acanthuridae	<i>Acanthurus monroviae</i>	Cirujano	Estrecho de Gibraltar	1987 Sur de la Península
	Soleidae	<i>Dicologlossa hexophthalma</i>	Acedía moteada	Estrecho de Gibraltar	1984 Cataluña
		<i>Solea senegalensis</i>	Lenguado senegalés	Estrecho de Gibraltar	1920 Costas de la Península
		<i>Synaptura lusitanica</i>	Lenguado portugués	Estrecho de Gibraltar	1960 Vinaroz
		<i>Microchirus boscanion</i>	Lenguado lusitánico	Estrecho de Gibraltar	1979 Mallorca
	Tetraodontidae	<i>Sphoeroides pachygaster</i>	Pez globo	Estrecho de Gibraltar	1979 Mallorca
	Syngnathidae	<i>Syngnathus rosellatus</i>	no posee	Estrecho de Gibraltar	1989 Málaga
Trachichthyidae	<i>Gephyroberyx darwinii</i>	Reloj de Darwin	Estrecho de Gibraltar	1963 Argelia	
Zeidae	<i>Zenopsis conchifer</i>	Pez de san Pedro plateado	Estrecho de Gibraltar	2006 Túnez	

Las especies exóticas recogidas en las lonjas pertenecen a seis taxones diferentes: pez globo (*Sphoeroides pachygaster*) representado por un 70,84% del total de individuos exóticos recogidos; pez de San Pedro plateado (*Zenopsis conchifera*) representado por un 20,24%; rascacio espinoso (*Trachyscorpia cristulata echinata*), lenguado lusitano (*Microchirus boscanion*) con un 2,38% , raspallón senegalés (*Diplodus bellottii*) y *Chylomycterus spinosus mauretanicus* cf. 2 representadas estas dos ultimas especies por un 1,19%.

Se ha de destacar la dificultad que muchas veces entraña para el sector pesquero el determinar si una especie es exótica o no, lo que explica en parte, que se haya recogido un 71% de especies no exóticas. Para complementar esta justificación se adjunta a continuación un árbol filogenético (Fig.1), que incluye todas las especies recogidas en las lonjas.

El árbol filogenético ha sido realizado en función de la clasificación taxonómica de estas especies a partir de los órdenes a los que pertenece cada especie. Cada orden se diferencia por un color y símbolo específico. Las especies exóticas han sido incluidas en el árbol filogenético y se diferencian por encontrarse dentro de un cuadrado rojo. En el árbol filogenético se diferencia un total de 17 órdenes y dentro de cada orden, en la mayoría de los casos, se diferencian especies exóticas y no exóticas. Esto se explicaría porque las relaciones genéticas normalmente proporcionan grandes semejanzas morfológicas a especies del mismo orden, pudiendo justificar la confusión del sector pesquero a la hora de seleccionar determinadas especies.

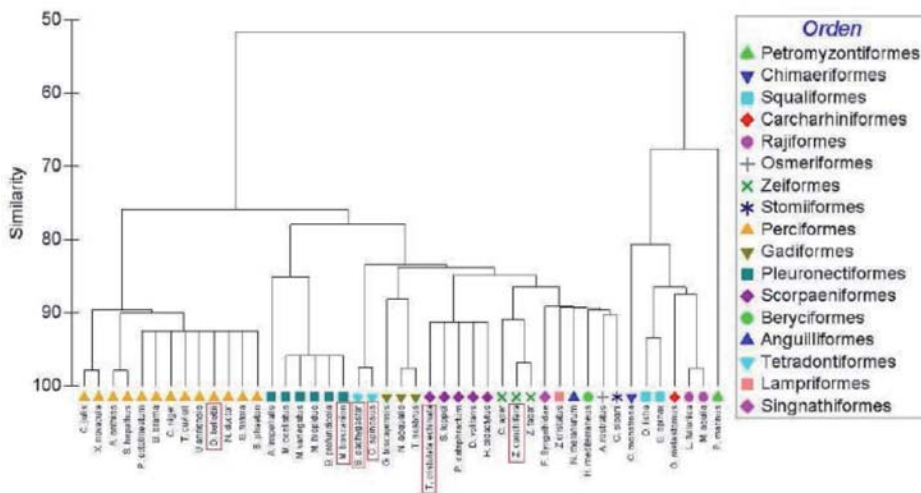


Figura 1.- Árbol filogenético.

individuos pertenecientes a 5 especies de las 6 que han aparecido, de las cuales 2 de ellas se han capturado exclusivamente en este puerto, el raspallón senegalés (*Diplodus bellottii*) y *Chilomycterus spinosus mauretanicus cf.* En Motril se ha capturado otra especie exclusiva, rascacio espinoso (*Trachyscorpia cristulata echinata*).

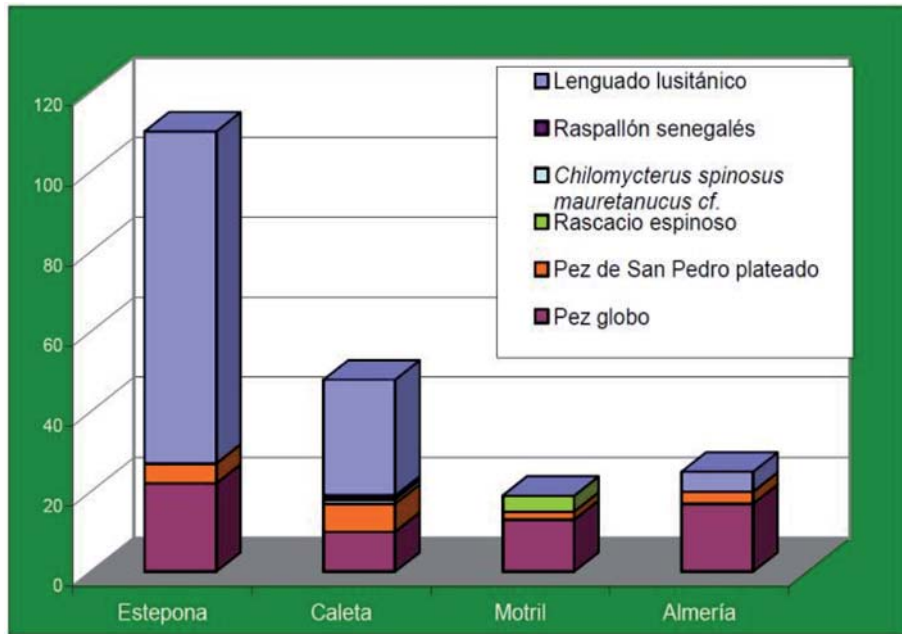


Figura 3.- Distribución de Spp. por puertos.

La caracterización individual de las seis especies detectadas nos depara los siguientes resultados:

1. *Sphoeroides pachygaster* (Müller Troschel, 1848). Analizando las causas de la presencia de esta especie se plantean dos opciones posibles que justificarían su situación en las aguas mediterráneas; la primera se basaría en la afluencia de la corriente Atlántica en esta zona en concreto de la cuenca, la cual tiende a reducir el gradiente físico-químico entre la región este del océano Atlántico y sur del Mediterráneo, siendo mayor, por tanto, la continuidad biogeográfica de las especies. Otra posibilidad podría deberse a los cambios producidos en la temperatura superficial del agua, favoreciendo la introducción de esta especie en el Mediterráneo, ya que es un típico taxón termófilo. La comparación de los caracteres merísticos y morfológicos de ejemplares capturados en las costas atlánticas y mediterráneas muestran una homogeneidad, que confirma la teoría de que los primeros individuos entraron

al Mediterráneo a través del Estrecho de Gibraltar (Bedini, 1998). La presencia en el Mediterráneo y el análisis de las gónadas maduras en ejemplares capturados en el Mediterráneo demuestra la capacidad de la especie para reproducirse a nivel local y dar lugar a una población autónoma independiente del reclutamiento Atlántico (Arcuelo, 1994), considerándose como especie establecida en el Mediterráneo y concretamente en la zona de estudio. La información administrada por el propio sector confirma que el pez globo fue comercializado en las costas atlánticas bajo la denominación “colas de rape”, principalmente debido al gran número de capturas en la zona atlántica.

2. *Zenopsis conchifera* (Lowe, 1852). Algunos autores apuestan que la presencia en el Mediterráneo de ésta especie está íntimamente relacionada con el aumento de temperatura del agua en la cuenca mediterránea (Queró et al., 1998, Xoplaki et al., 2003). La especie pertenece al género *Zeidae* dentro del que se distinguen especies de gran interés comercial, como por ejemplo el del pez de San Pedro (*Zeus faber*), especie autóctona del Mediterráneo y morfológicamente muy parecida al pez de san Pedro plateado. Del total de individuos capturados, ocho (el 47,05%) han sido comercializados en lonja, alcanzado un valor medio de 9,28€/Kg. Se piensa que por las similitudes morfológicas que posee con otras especies que pertenecen a la misma familia, como es el caso de pez de San Pedro (*Zeus faber*), ha alcanzado un elevado valor comercial. Se considera al pez de san Pedro plateado como una nueva especie que se añade a la lista de especies comerciales, aumentando la oferta en cuanto a la variedad de recursos pesqueros capturados por la flota pesquera mediterránea. Un aumento de las capturas podría consolidar el precio de la especie en las lonjas.
3. *Trachyscorpia cristulata echinata*. Se trata de una especie de influencia atlántica en el Mediterráneo (Massuti et al., 1993), que ha colonizado las aguas profundas del mar de Alboran. A pesar de considerar sus capturas como muy raras (Ragonese, 1999) se han capturado 4 ejemplares de esta especie en la zona de estudio. Es importante resaltar que todos los individuos capturados han sido comercializados en la lonja de Motril., alcanzando un valor medio de 7.65€/Kg.
4. *Diplodus bellottii* (Steindachner, 1882). En el Mediterráneo existen varias especies que pertenecen al mismo género que el raspallón senegalés pero a diferencia de ésta son especies autóctonas; como por ejemplo la mojarra (*Diplodus vulgaris*) y el raspallón (*Diplodus annularis*) entre otros.
5. *Microchirus boscanion* (Chabanaoud, 1926). Se considera como especie establecida aunque sus capturas son raras. El establecimiento y expansión en el Mediterráneo

del lenguado lusitánico puede depender de la alta capacidad de colonización y de la presencia de algún nicho espacio temporal vacante entre los soleidos simpátricos nativos.

6. *Chilomycterus spinosus mauretanicus* cf. (Le Danois, 1954). Se trata del primer ejemplar del género *Chilomycterus* capturado en aguas del Mediterráneo. Al incluir la distribución natural de la especie el océano Atlántico, la localización de la zona de captura nos confirma la vía de entrada al Mediterráneo, el Estrecho de Gibraltar, descartando las aguas de lastre de los barcos debido al tamaño del ejemplar. Este nuevo taxón aumenta la lista de especie exóticas en el Mediterráneo.

CONCLUSIONES

1. La captura de un ejemplar de *Chilomycterus spinosus mauretanicus* cf. verifica la continua llegada de nuevas especies exóticas al Mediterráneo ya que es la primera vez que se describe en aguas mediterráneas. Por lo tanto, se estima conveniente informar de la llegada de esta especie al Mediterráneo.
2. Los embarques realizados han puesto de manifiesto la existencia de la una población establecida en nuestras costas del lenguado lusitánico. Con un total 117 individuos capturados en los diferentes puertos, esta especie pasa desapercibida por el sector pesquero debido a su confusión con una autóctona, por el contrario, constituye la especie más capturada durante los embarques.
3. En cuanto a las posibilidades de las especies exóticas como futura fuente de recursos pesqueros se ha comprobado que dos de las especies exóticas encontradas han sido comercializadas alcanzando altos precios en lonjas, concretamente habría que referirse a los casos del pez de San Pedro plateado (*Zenopsis conchifera*) y del rascacio espinoso (*Trachyscorpia cristulata echinata*). Actualmente, estas especies presentan una frecuencia baja de capturas pero si aumentasen en los próximos años podrían constituir una fuente de recursos.
4. El proyecto ha sido muy bien recibido por el sector pesquero, con un nivel óptimo de participación y respuesta. Las especies exóticas se han recogido en todos los puertos donde desarrollaba el proyecto y los datos obtenidos en los diferentes muestreos han demostrado la presencia de especies exóticas de interés comercial en nuestras costas. Aún así, una continua revisión de la literatura y un sistema de detección,

como el propuesto en este trabajo, se vislumbran como una herramienta necesaria para mantener actualizada la incorporación de nuevas especies

BIBLIOGRAFÍA

- Arculeo M.S., Rigió S., D'Anna G. 1994. First record of *Sphoeroides pachygaster* (Tetraodontidae) in the south Tyrrhenian (N/W Sicily). *Cybium* 18: 208-209.
- Azurro E., Pizzicori P.Y., Andaloro, F. 2004. First record of *Fistularia commersonii* (Fistularidae) from the central Mediterranean. *Cybium* 28: 72-74.
- Bianchi C.N. 2007. Biodiversity issues for the forthcoming tropical Mediterranean Sea. *Hydrobiologia* 580: 7-21.
- Briggs J.C. 2007. Marine biogeography and ecology: invasions and introductions. *Journal of Biogeography* 34: 193-198.
- Frida, B., Mouillot D. 2008. Increasing southern invasion enhances congruences between endemic and exotic Mediterranean fish fauna. *Biological invasions* 11: 697-711.
- Frida B., Tomasini J.A., Romdhane M.S., Do-Chi T., Mouillot D. 2008. Historical colonization of the Mediterranean Sea by Atlantic fishes: do biological traits matter? *Hydrobiologia* 607:51-62.
- Galil B.S. 2008. Alien Species in the Mediterranean Sea- which, when, where, why? *Hydrobiologia* 606:105-116.
- Galil, B.S. 2008. Taking stock: inventory of alien species in the Mediterranean sea. *Biological invasions* 11: 359-372.
- Por F.D. 1978. *Lessepsian Migration – the influx of Red Sea Biota into the Mediterranean by way of the Suez Canal*. Springer-Verlag. 228 pp.
- Ragonese S., Giusto G. 1999. Range extension for *Trachyscorpia cristulata echinata* (Pisces, Scorpaenidae) in the Central Mediterranean Sea. *Bulletin of Marine Science* 64: 329-334.

ESTUDIO SOBRE LA INCORPORACIÓN AL MAR DE ALBORÁN DE NUEVAS ESPECIES ICTIOLÓGICAS DE INTERÉS COMERCIAL.

Norman Barea, C¹, Garrido López, A², Hidalgo Puertas, F³.

¹ Servicio de Desarrollo Pesquero, Deleg. Territorial de Granada, Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Edif. Administrativo Almarjayar, s/Avda. Juan de Espinosa nº2, 18071 Granada. e-mail: joce.norman@juntadeandaluz.es
² IAGAPA-IAMEDI, c/María Cortés 35 (Paseo Tecnológico de Andalucía), 29590 Campanillas, Málaga.
³ Dep. Biología Animal, Univ. Granada, Avda. Sierra de Otívar s/n, 18071 Granada.



INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Actualmente hay 558 especies exóticas en el mar Mediterráneo y cada año se alcanza un promedio de 10 nuevas especies en el Mediterráneo (Gall, 2008). Desde la publicación del Atlas CIESM en 2004 han sido registradas en el Mediterráneo 19 nuevas especies. En 2007, se contabilizó un total de 108 taxones de 68 familias diferentes, lo cual representa un incremento del 20% cada 4 años (Golani et al., 2007). La ubicación geográfica, la navegación, la acuicultura marina y calentamiento global son los 4 principales factores que determinan la llegada de especies exóticas al Mediterráneo.

Conscientes de ello, la Delegación Provincial de Agricultura y Pesca de Granada propuso a la Consejería la realización de un "Estudio sobre las especies ictiológicas exóticas de interés comercial que se estaban incorporando al Mediterráneo occidental". Este póster pretende difundir el estudio realizado a través de la Empresa Pública de Desarrollo Agrario y Pesquero en pro de acrecentar el conocimiento sobre estos peces.

METODOLOGÍA

El área de estudio ha sido el mar de Alborán, y en particular los caladeros tradicionales que discurren desde el estrecho de Gibraltar al Cabo de Gata. En primer lugar se realizó una revisión de la literatura científica relacionada con la presencia de especies exóticas en la cuenca mediterránea y específicamente en la costa mediterránea andaluza. Han sido consultadas las bases de datos del CIESM, ICTIMEO, ERMIS (Registro europeo de especies marinas), CASIE (Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe), MARBEF (Biodiversidad Marina Europea), WORMS (Registro mundial de especies marinas) y algunas bases de datos bibliográficas como Cybium Zoological Record entre otras. Después de la fase de recopilación de la información se instalaron en los puertos de Estepona, Caleta de Vélez, Motil y Almería, sus respectivos congeladores, con el fin de mantener las muestras recogidas por el sector durante sus lances de pesca o bien las muestras procedentes la subasta de la primera venta. Esta segunda fase también incluyó la distribución de un cartel informativo para los pescadores participantes y los jefes de lonja, con el objetivo de que les sirviesen como referencia y guía para la identificación visual de algunas especies exóticas. Esta prospección de datos se complementaba con los correspondientes embarques "a cava", radificar las observaciones realizadas en los 4 puertos elegidos, para observar el descarte y para determinar la localización geográfica de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la revisión documental se recogen en la Tabla I, pudiéndose observar que tan sólo el 5% son especies lestegepianas y que entre ellas destaca la corveta piletada (*Pilastelia commersonii*) -catalogada en CASIE como una de las 100 peores especies invasoras-. Por otro lado, de los datos aportados por el sector pesquero se puede colegir que las especies exóticas recogidas pertenecen a seis taxones diferentes (Figura I): pez globo (*Sphoeroides pachygaster*) representado por un 70,84% del total de individuos exóticos recogidos; pez de San Pedro plateado (*Zenopsis conchifera*) representado por un 20,24%; rascacero espinoso (*Trachycorpsa cristulata* echinata), langosta lusitano (*Microdeca boscaioni*) con un 2,35%; rascacero senegalés (*Diploodus bellottii*) y *Chilomycterus spinosus* mauritanicus cf., representadas éstas dos últimas especies por un 1,15%.

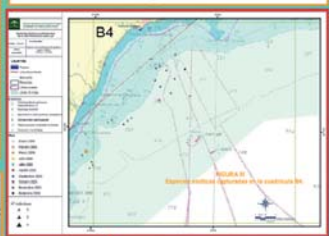
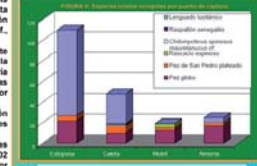
En las lonjas se han podido contabilizar 43 especies (Figura II) y, en su correspondiente árbol filogenético se diferencian un total de 17 órdenes y dentro de cada orden, en la mayoría de los casos, se diferencian especies exóticas y no exóticas. Esto se explicaría porque las relaciones genéticas normalmente proporcionan grandes semejanzas morfológicas a especies del mismo orden, pudiendo justificar la confusión del sector pesquero a la hora de seleccionar determinadas especies. Los datos procedentes de los embarques han proporcionado una valiosa información cartográfica tanto para los caladeros (Figura III) como para las 6 diferentes especies exóticas localizadas (Figura IV).

Analizando los datos en conjunto de lonjas y embarques, y atendiendo a las provincias donde se han capturado las especies exóticas (Gráfica 5.B), se ha recogido datos de 202 individuos exóticos, siendo Estepona el puerto donde se han capturado el mayor número de individuos, con un total de 110 ejemplares (56,45%); El puerto con menor número de especies exóticas capturadas es Motil, con 19 ejemplares, representado por un 9,41% del total (Figura V). En todos los puertos se han desembarcado dos especies, pez globo (*Sphoeroides pachygaster*) y pez de San Pedro plateado (*Zenopsis conchifera*). Caleta de Vélez ha sido el puerto donde se han capturado mayor diversidad de especies exóticas, con las capturas de individuos pertenecientes a 5 especies de las 6 que han aparecido, de las cuales 2 de ellas se han capturado exclusivamente en este puerto, el rascacero senegalés (*Diploodus bellottii*) y *Chilomycterus spinosus* mauritanicus cf. En Motil se ha capturado otra especie exclusiva, rascacero espinoso (*Trachycorpsa cristulata* echinata).

BIBLIOGRAFÍA

Barea, N., Garrido López, A. y Hidalgo Puertas, F. (2010) "Estudio sobre las especies ictiológicas exóticas de interés comercial que se estaban incorporando al Mediterráneo occidental". Póster presentado en el V Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura, celebrado en Granada, España, del 2 al 4 de octubre de 2010. Ed. de la Junta de Andalucía, Sevilla, España. 10 pp. ISBN: 978-84-481-4810-0. Disponible en: www.juntadeandaluz.es.
 Barea, N., Garrido López, A., Hidalgo, F. y Cortés, J. (2011) "Especies exóticas en el mar de Alborán (Mediterráneo occidental)". Póster presentado en el VI Congreso Nacional de Acuicultura, celebrado en Madrid, España, del 1 al 3 de octubre de 2011. Ed. de la Asociación Española de Acuicultura, Madrid, España. 10 pp. ISBN: 978-84-938-1000-0. Disponible en: www.aea.es.
 Barea, N., Garrido López, A., Hidalgo, F. y Cortés, J. (2012) "Especies exóticas en el mar de Alborán (Mediterráneo occidental)". Póster presentado en el VII Congreso Nacional de Acuicultura, celebrado en Madrid, España, del 1 al 3 de octubre de 2012. Ed. de la Asociación Española de Acuicultura, Madrid, España. 10 pp. ISBN: 978-84-938-1000-0. Disponible en: www.aea.es.

Orden	Familia	Especies	Número de especies	100 años antes	Primer registro
Coronado	Caracidae	<i>Caracanthus goniatus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
		<i>Caracanthus turanus</i>	Turkey	1883	Alborán
Osteichthyes	Channidae	<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán
		<i>Channa asiatica</i>	India	1883	Alborán



CONCLUSIONES

1. La captura de un ejemplar de *Chilomycterus spinosus* mauritanicus cf. verifica la continua llegada de nuevas especies exóticas al Mediterráneo ya que es la primera vez que se describe en aguas mediterráneas. Por lo tanto, se estima convenientemente informar de la llegada de esta especie al Mediterráneo.
2. Los embarques realizados han puesto de manifiesto la existencia de la una población establecida en nuestras costas del langosta lusitano. Con un total 117 individuos capturados en los diferentes puertos, esta especie pasa desapercibida por el sector pesquero debido a su confusión con una autóctona, por el contrario, constituye la especie más capturada durante los embarques.
3. En cuanto a las posibilidades de las especies exóticas como futura fuente de recursos pesqueros hemos comprobado que dos de las especies exóticas encontradas han sido comercializadas alcanzando altos precios en lonjas, concretamente habría que referirse a los casos del pez de San Pedro plateado (*Zenopsis conchifera*) y del rascacero espinoso (*Trachycorpsa cristulata* echinata). Actualmente, estas especies presentan una frecuencia baja de capturas pero si aumentasen en los próximos años podrían constituir una fuente de recursos.

Flujos de gases con efecto invernadero a la atmósfera en tres sistemas del Parque Natural Bahía de Cádiz

Visintini-Adomaitis N., Ortega T., Forja J.M.

Departamento de Química-Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz. Campus Río San Pedro, 11510, Puerto Real (Cádiz), España.

natalia.visintini@gmail.com

RESUMEN

Se ha caracterizado la concentración de gases con efecto invernadero en tres sistemas del Parque Natural Bahía de Cádiz en julio de 2012: río San Pedro, río Guadalete y caño de Sancti Petri. La cuantificación de CH_4 y N_2O se ha realizado mediante un sistema de equilibración acoplado a un cromatógrafo de gases con detectores de ionización de llama y captura electrónica. La presión parcial de CO_2 se ha calculado a partir del pH y alcalinidad de la muestra. En el Río San Pedro se ha observado un aumento continuo de las concentraciones de estos tres gases desde la desembocadura hacia las estaciones más internas, que se ha relacionado con la influencia de los procesos de mineralización de la materia orgánica en los sedimentos y los aportes de estos gases que pudieran recibir de piscifactorías situadas en la zona. Este sistema se encuentra sobresaturado de los tres gases en todas las estaciones analizadas y presenta unos valores máximos de sobresaturación de 118%, 9200% y 635% de CO_2 , CH_4 y N_2O . Así mismo, el río Guadalete presenta un aumento de las concentraciones de CH_4 , N_2O y CO_2 disueltos hacia su interior, con valores de sobresaturación que varían entre 3270% y 5850% para CH_4 , 540% y 1150% para N_2O y 130% y 530% para CO_2 . Las variaciones que se han observado responden a un aumento de la solubilidad de los gases a medida que disminuye la salinidad y a la influencia de los aportes que provienen de la planta depuradora. En el caño mareal de Sancti Petri se observaron mayores saturaciones de dióxido de carbono, metano y óxido nítrico en la zona central del caño, donde debido a la hidrodinámica del

sistema existe una mayor acumulación de materia orgánica en los sedimentos. Se han cuantificado los flujos de CH_4 , N_2O y CO_2 a través de la interfase agua-atmósfera y los resultados obtenidos permiten considerar que la zona actúa como fuente de estos gases invernadero.

PALABRAS CLAVE

Flujos de gases, interfase agua-atmósfera, metano, óxido nitroso, dióxido de carbono.

INTRODUCCIÓN

El CO_2 , CH_4 y N_2O son responsables del 88% de la absorción de radiación en la atmósfera e influyen en el clima global del planeta. Las zonas costeras actúan como conexión entre los océanos y el continente siendo regiones de gran importancia biológica y geoquímica. Además, están sujetas a un aumento en los aportes de nutrientes y carbono orgánico debido a la alta densidad poblacional asentada en sus márgenes. En ellas, los procesos de intercambio de materia orgánica y energía modifican la presión parcial de CO_2 produciendo aguas subsaturadas o sobresaturadas con respecto a la $p\text{CO}_2$ en la atmósfera. Así, las zonas litorales pueden actuar como fuentes o sumideros de dicho gas. El CH_4 y el N_2O tienen, respectivamente, una capacidad de absorción de la radiación infrarroja 21 y 206 veces más efectiva que la del CO_2 . La importancia de su estudio en zonas litorales se debe a que las plataformas continentales y áreas costeras favorecen la producción tanto de N_2O , aportando entre el 15% y el 61% de las emisiones de este gas, como de CH_4 , con más del 75% de las emisiones globales oceánicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La concentración de CO_2 se calculó a partir de pH y alcalinidad total, que se analizaron por duplicado mediante valoración potenciométrica utilizando un valorador automático Metrohm 794 provisto de un electrodo combinado de vidrio (Metrohm, ref 6.0210.100), calibrado previamente en la escala total.

Las concentraciones de CH_4 y N_2O disueltos se midieron con un cromatógrafo de gases

Bruker GC-450 conectado a un sistema de equilibración y provisto de un detector de ionización de llama y otro de captura electrónica. Los flujos se obtuvieron utilizando el coeficiente de transferencia propuesto por Carini *et al.*, (1996) y como coeficientes de solubilidad se utilizaron las expresiones de Weiss (1974) para el CO_2 , la de Wiesenburg y Guinasso (1979) para el CH_4 y la de Weiss y Price (1980) para el N_2O .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se puede observar que en el caño de Sancti Petri los flujos máximos de N_2O y CO_2 ocurren en la zona central, debido a un grado de renovación menos intenso y afectada por los aportes de la red de drenajes de la zona de marismas. El río Guadalete presenta los mayores flujos a la atmósfera en la zona interior del estuario, posiblemente relacionado con las descargas de la planta de tratamiento, así como al drenaje de zonas agrícolas adyacentes. El Río San Pedro mostró un comportamiento similar para los tres gases, siendo máximas tanto sus concentraciones como sus flujos hacia la atmósfera en la zona de descarga de efluentes piscícolas.

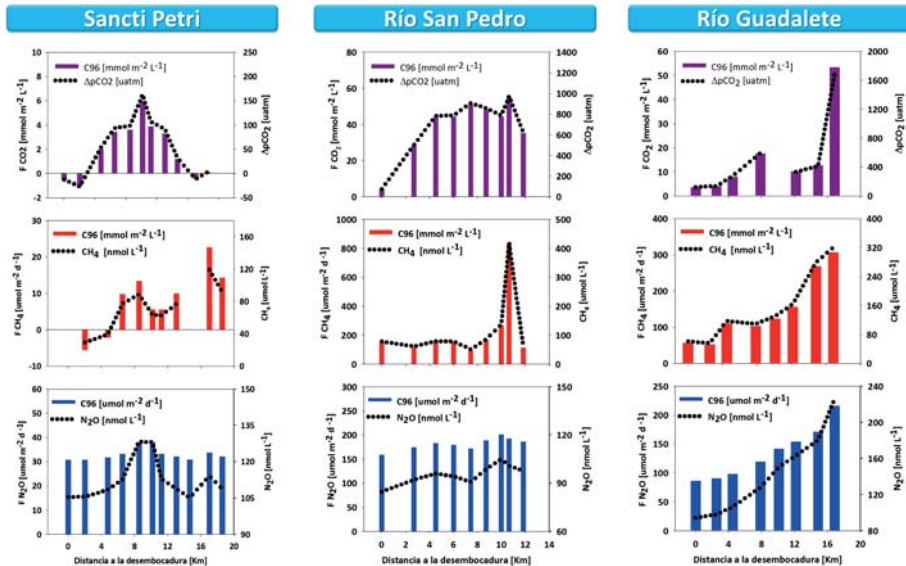


Figura 1.- Flujos de CO_2 , CH_4 y N_2O en la interfase agua-atmósfera en Sancti Petri, río San Pedro y río Guadalete.

En la tabla I se puede ver que los flujos de CO₂, CH₄ y N₂O son mayores en el Río San Pedro. Con respecto a las emisiones de CH₄ y N₂O el caño de Sancti Petri fue en el que se observaron los mayores aportes debido a su mayor área, mientras que el río Guadalete presenta las mayores emisiones de CO₂.

Tabla I.- Flujos medios y emisiones de CO₂, CH₄ y N₂O en el río Guadalete (RGT), Río San Pedro (RSP) y caño de Sancti Petri (CSP).

	Flujo CO ₂ mmol m ⁻² d ⁻¹	Flujo CH ₄ μmol m ⁻² d ⁻¹	Flujo N ₂ O μmol m ⁻² d ⁻¹	Emisión CO ₂ mol d ⁻¹	Emisión CH ₄ mol d ⁻¹	Emisión N ₂ O mol d ⁻¹
RGT	15,6	147,3	134,4	31.100	294,6	268,8
RSP	39,5	228,5	181,6	14.200	82,3	65,4
CSP	2,0	85,7	132,1	15.700	685,9	1.056,83

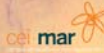
CONCLUSIONES

Existe una dependencia de los flujos de los gases estudiados con los aportes de materia orgánica y vertidos. Tanto el río Guadalete como el río San Pedro y el caño Sancti Petri se comportan como fuentes de CO₂, CH₄ y N₂O.

BIBLIOGRAFÍA

- Carini S., Weston N., Hopkinson C., Tucker J., Giblin A. and Vallino J. 1996. Gas Exchange rates in the Parker River Estuary, Massachusetts. *Biol. Bull.* 191: 333-334.
- Weiss R.F. 1974. CO₂ in water and seawater: the solubility of a non-ideal gas. *Marine Chemistry*, 2: 203-215.
- Weiss R.F. and Price B.A. 1980. Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Marine Chemistry*, 8: 347-359.
- Wiesenburg D.A. y Guinasso N.L. 1979. Equilibrium solubilities of methane, carbon monoxide and hydrogen in water and sea water. *J. Chem. Eng. Data.* 24: 356-360.

FLUJOS DE GASES CON EFECTO INVERNADERO A LA ATMÓSFERA EN 3 SISTEMAS DEL PARQUE NATURAL BAHÍA DE CÁDIZ



Visintini-Adomaitis, N.; Ortega, T.; Forja, J. M.

Departamento de Química-Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz. Campus Río San Pedro, 11510, Puerto Real (Cádiz), España.



INTRODUCCIÓN

El CO_2 , CH_4 y N_2O son responsables del 88% de la absorción de radiación en la atmósfera e influyen en el clima global del planeta. El CH_4 y el N_2O tienen, respectivamente, una capacidad de absorción de la radiación infrarroja 21 y 206 veces más efectiva que la del CO_2 . La importancia del estudio de estos gases en zonas litorales radica en que las plataformas continentales y áreas costeras favorecen la producción tanto de N_2O , aportando entre el 15% y el 61% de las emisiones de este gas, como de CH_4 , con más del 75% de las emisiones globales oceánicas.

ZONA DE ESTUDIO

En 3 zonas del Parque Natural Bahía de Cádiz se estudiaron las variaciones de las concentraciones de CO_2 , CH_4 y N_2O



Figura 1. Parque Natural Bahía de Cádiz (a) y detalle de los sistemas de estudio: río Guadalete (b), Río San Pedro (c), y caño de Sancti Petri (d).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

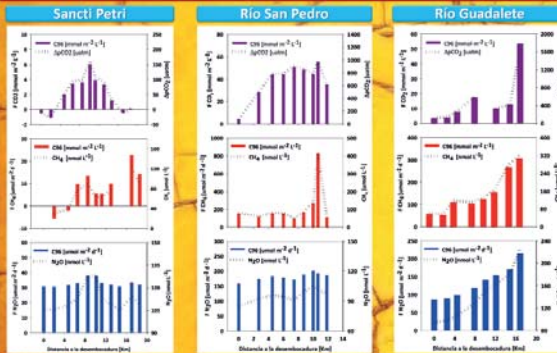


Figura 3. Flujos de CO_2 , CH_4 y N_2O en la interfase agua-atmósfera. En el caño de Sancti Petri los flujos máximos de N_2O y CO_2 ocurren en la zona central con un grado de renovación menos intenso y afectada por los aportes de la red de drenajes de la zona de marismas. El río Guadalete presenta los mayores flujos a la atmósfera en la zona interior del estuario, posiblemente relacionado a las descargas de la planta de tratamiento, así como al drenaje de zonas agrícolas adyacentes. El Río San Pedro mostró un comportamiento similar para los tres gases, siendo máximas tanto sus concentraciones como sus flujos hacia la atmósfera en la zona de descarga de efluentes piscícolas.

Tabla 1. Flujos y emisiones de cada sistema. Los flujos de CH_4 y N_2O son mayores en el Río San Pedro, mientras que en el río Guadalete se registran los flujos de CO_2 más altos. Las mayores emisiones se encontraron en el caño de Sancti Petri debido a que ocupa una mayor superficie.

	Flujo CH_4 [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$]	Flujo N_2O [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$]	Flujo CO_2 [$\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$]	Emisión CH_4 [mol d^{-1}]	Emisión N_2O [mol d^{-1}]	Emisión CO_2 [mol d^{-1}]
Río Guadalete	147.3	134.4	39.5	294.6	268.8	14200
Río San Pedro	228.5	181.6	15.6	82.3	65.4	31100
Sancti Petri	85.7	132.1	2.0	685.9	1056.8	15700

METODOLOGÍA

La concentración de CO_2 se calculó a partir de pH y alcalinidad total.

Luego de un proceso de equilibración se midieron las concentraciones de CH_4 y N_2O con un cromatógrafo de gases Bruker GC-450 provisto de un detector de ionización de llama y otro de captura de electrones. Las áreas de los cromatogramas obtenidos se transformaron en concentraciones calculando la relación entre el área y la pendiente de la curva de calibración para el gas correspondiente. Los flujos se obtuvieron utilizando el coeficiente de transferencia propuesto por Carini *et al.*, (1996) y como coeficientes de solubilidad se utilizaron las expresiones de Weiss (1974) para el CO_2 , la de Wiesenburg y Guinasso (1979) para el CH_4 , la de Weiss y Price (1980) para el N_2O .

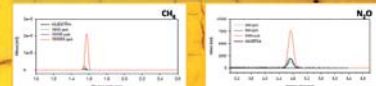


Figura 2. Cromatogramas típicos obtenidos de CH_4 y N_2O .

CONCLUSIONES

Tanto el río Guadalete como Río San Pedro y el caño Sancti Petri se comportan como fuentes de CO_2 , CH_4 y N_2O .

Existe una dependencia de los flujos de los gases estudiados con los aportes de materia orgánica y vertidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Carini *et al.* (1996). *Biol. Bull.* 151, 333-334.
- Weiss (1974). *Marine Chemistry*. 2, 203-216.
- Weiss y Price (1980). *Mar. Chem.* 8, 347-359.
- Wiesenburg y Guinasso (1979). *J. Chem. Eng. Data*. 24, 356-360.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo ha sido financiado por el Proyecto CICYT CTM2011-28911 "FLUJOS A LA ATMÓSFERA DE GASES CON EFECTO INVERNADERO EN EL PARQUE NATURAL BAHÍA DE CÁDIZ: INTERRELACION CON FACTORES ANTRÓPICOS" (Visintini-Adomaitis, N. es becario de Formación Científica).

Influencia de la densidad de carga sobre el metabolismo energético en juveniles de bagre (*Rhamdia quelen*)

Menezes¹ C.C., Ruiz-Jarabo² I., Toni³ C., Salbego³ J., Becker³ A., Cunha³ M.A., Loro² V.L., Baldisserotto³ B., Mancera² J.M.

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

²Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España.

³Departamento de Fisiología e Farmacología, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

ignacio.ruizjarabo@uca.es

RESUMEN

La densidad de carga es un factor que activa el sistema de estrés en los peces, afectando al metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. De este modo, el objetivo de este estudio ha sido investigar los efectos de diferentes densidades de carga, además del efecto del ayuno, sobre diversos parámetros metabólicos en juveniles de bagre (*Rhamdia quelen*). Los animales ($164,9 \pm 3,4$ g y $25,7 \pm 0,2$ cm) se dividieron en cuatro grupos experimentales: i) alta (32 kg/m^3), ii) media (16 kg/m^3) y, iii) baja densidad de carga (8 kg/m^3) alimentados diariamente, y iv) baja densidad (8 kg/m^3) mantenidos en ayunas durante 14 días. Plasma e hígado fueron recolectados para el análisis de metabolitos (glucosa, lactato, glucógeno, triglicéridos, proteínas y aminoácidos) y enzimas metabólicas: piruvato quinasa (PK), glucógeno fosforilasa (GPasa), glutamato deshidrogenasa (GDH), aspartato aminotransferasa (GOT) y glicerol 3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH). El peso de los especímenes mostró una tendencia a aumentar con la densidad de carga y a disminuir debido al ayuno. Los parámetros plasmáticos analizados no mostraron diferencias significativas con la densidad, mientras que los triglicéridos disminuyeron significativamente en el grupo en ayunas. A nivel hepático,

la glucosa no presentó diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales, mientras que el glucógeno y triglicéridos se incrementaron a medida que aumentaba la densidad de carga, con diferencias entre los grupos mantenidos a 16 y 32 kg/m³. En cuanto a los animales mantenidos a la menor densidad de carga, el grupo en ayunas mostró unos valores menores de estos parámetros en comparación con el grupo alimentado. La actividad de las enzimas GPasa, GOT y G3PDH presentó una tendencia a disminuir con la densidad, mientras que aumentó significativamente en el grupo en ayunas. La actividad GDH se incrementó en el grupo de alta densidad comparado con el resto de grupos. Por otro lado, la actividad PK mostró una curva en forma de U en relación con la densidad. Nuestros resultados sugieren una estimulación del potencial glucogenolítico cuando los especímenes están sometidos a condiciones de baja densidad con y sin comida. Esto último puede deberse a una redistribución de la energía como resultado de un estrés metabólico producido tanto por competencia intraespecífica como por ayuno, respectivamente. Sin embargo, las condiciones de cultivo de alta y media densidad parecen promover el almacenamiento de reservas metabólicas en el hígado, ya sea en forma de triglicéridos o de glucógeno tras 14 días de experimento, pero lo hace de manera diferencial para cada grupo experimental.

PALABRAS CLAVE

Rhamdia quelen, densidad de cultivo, metabolismo, hígado.

INTRODUCCIÓN

La densidad óptima de cultivo es específica para cada especie de teleosteo, dependiendo entre otros factores del sistema de cultivo, alimentación, potencial de crecimiento, *sex ratio*, edad, tamaño de los animales, etc (Daniels *et al.*, 1996; Björnsson *et al.*, 2012). Sin embargo, el uso de elevadas densidades de cultivo en acuicultura es necesario para obtener una producción económica eficiente y rentable (Martinez-Cárdenas and Purser, 2012). En muchas ocasiones, la alta densidad de cultivo puede considerarse un agente estresante, causando efectos negativos sobre el crecimiento, metabolismo, parámetros fisiológicos y bioquímicos (Montero *et al.*, 1999; Sangio-Alvarellos *et al.*, 2005; Herrera *et al.*, 2009; Barcellos *et al.*, 2011).

De este modo, la densidad de cultivo puede activar el sistema de estrés, afectando a diferentes rutas metabólicas relacionadas con lípidos, carbohidratos o proteínas (Montero *et al.*, 1999; Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2005; Costas *et al.*, 2008; Laiz-Carrión *et al.*, 2012). El ayuno es también un tipo de estrés bastante común en los teleósteos. Al menos durante las fases iniciales del ayuno, el mantenimiento de la glicemia está directamente relacionado con la capacidad de movilización del glucógeno hepático, así como también depende de la subsecuente activación de la gluconeogénesis en este tejido y la reducción de las tasas de utilización de glucosa (Navarro and Gutiérrez, 1995). Numerosos estudios han analizado los efectos de un único agente estresante sobre el metabolismo energético en peces (Polakof *et al.*, 2006; Barcellos *et al.*, 2010; 2011) pero pocos se han centrado en los efectos conjuntos de la densidad de carga y el ayuno (Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2005; Laiz-Carrión *et al.*, 2012).

El bagre, *Rhamdia quelen*, es un pez neotropical que muestra un elevado potencial en la acuicultura del estado de Rio Grande do Sul (Brasil) debido a su elevada tasa de crecimiento, buen rendimiento de la canal, y fácil manejo reproductivo en clima subtropical (Baldisserotto, 2009; de Amorin *et al.*, 2009). Esta especie ha sido intensamente cultivada y ha sido usada como modelo para mejorar la gestión de varias especies peces de esta familia (Barcellos *et al.*, 2010). Así pues, este trabajo pretende conocer los efectos de diferentes densidades de cultivo y regímenes de alimentación sobre diversos parámetros bioquímicos y fisiológicos, tanto a nivel plasmático como hepático del bagre (*Rhamdia quelen*), aportando conocimiento para el cultivo de esta especie de teleósteo.

MATERIALES Y MÉTODOS

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Ejemplares juveniles de bagre ($164,9 \pm 3,4$ g y $25,7 \pm 0,2$ cm) procedentes del sector acuícola local fueron adquiridos por la Universidad Federal de Santa María (Brasil) y transferidos al laboratorio de Fisiología de Peces de esta universidad. Antes del experimento, los animales fueron mantenidos durante al menos 10 días en tanques de 250 L con aireación continua y circuito abierto bajo fotoperiodo natural (12:12 h luz:oscuridad). Durante todo el periodo de aclimatación y experimentación, la calidad del agua se mantuvo en los siguientes intervalos: temperatura, $22,0 \pm 0,7$ °C; pH, $7,0 \pm 0,5$; oxígeno disuelto, $8,0 \pm 0,2$ mg/L; nitritos, $0,08 \pm 0,01$ mg/L; alcalinidad, $37,0 \pm 3,2$ mg/L CaCO₃ y; nitrógeno amoniacal total, $0,009 \pm 0,001$ mg/L. Tras la aclimatación, los peces fueron divididos, en tanques de 250 L, en

cuatro grupos experimentales (dos réplicas por tratamiento): i) alta (32 kg/m³), ii) media (16 kg/m³) y, iii) baja densidad de carga (8 kg/m³) alimentados diariamente, y iv) baja densidad (8 kg/m³) en ayunas. Tras 14 días desde el inicio del experimento los peces fueron anestesiados con 50 mg/L eugenol durante 3 minutos, pesados, medidos y se procedió a la toma de muestras (n=8 animales por condición experimental). La sangre se recogió mediante jeringas heparinizadas, se obtuvo plasma mediante centrifugación de la misma (3 min, 10.000 g, 4 °C) y se congeló a -80 °C hasta su análisis. El sacrificio se llevó a cabo mediante sección espinal, se extrajo el hígado y se congeló en nitrógeno líquido inmediatamente después. El tejido se mantuvo a -80 °C hasta posterior análisis de metabolitos y actividades enzimáticas. Estas muestras fueron transportadas al Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales de la Universidad de Cádiz (España) para el análisis de los metabolitos en plasma y de metabolitos y actividades enzimáticas en hígado.

MÉTODOS ANALÍTICOS

❖ Determinaciones en plasma

Glucosa, triglicéridos y lactato se midieron mediante kits comerciales de Spinreact (Glucose-HK, ref. 1001200; Lactate, ref. 10013300; TAG, ref. 10013110). Las proteínas totales se determinaron usando el método del ácido bicinónico mediante kit comercial de Thermo (Pierce BCA protein assay kit, ref. 23225, Thermo Scientific, USA) usando albúmina sérica ovina como estándar. Los α -aminoácidos totales se midieron colorimétricamente usando ninhidrina mediante el método de Moore (1968) adaptado a microplacas y usando L-alanina (Sigma, A-7469) como estándar. Todos los ensayos se llevaron a cabo en un espectrofotómetro Bio-Tek PowerWave 340 Microplate spectrophotometer (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA) usando el programa KCjunior Data Analysis Software para Microsoft Windows XP.

❖ Metabolitos en hígado

El hígado congelado se trocóo finamente sobre una placa de Petri en hielo para luego homogeneizarlo mediante un Ultra-Turrax T25 basic (IKA-Werke) con 7,5 volúmenes de 0.6 N ácido perclórico, neutralizado (con 1 M de bicarbonato de potasio), centrifugado (30 min a 3.220 g, 4°C en una centrífuga Eppendorf Centrifuge 5810R) y el sobrenadante fue usado para analizar los metabolitos. Antes de la centrifugación, una alícuota se extrajo y se congeló a -80°C para el análisis de los TAG mediante kit comercial (como se ha descrito anteriormente para plasma). La concentración de glucógeno en el tejido se analizó mediante el método de Keppler and Decker (1974). La glucosa obtenida tras la ruptura del glucógeno (y

tras extraer la glucosa libre) se determinó mediante kit comercial (tal y como se ha descrito para plasma). Los α -aminoácidos totales se midieron colorimétricamente usando ninhidrina mediante el método de Moore (1968) adaptado a microplacas y usando L-alanina (Sigma, A-7469) como estándar.

❖ Actividades enzimáticas en hígado

El hígado congelado se trocó finamente sobre una placa de Petri en hielo para luego homogeneizarlo mediante disrupción ultrasónica (Misonix inc., Microson Ultrasonic liquid processor XL-2000) con 10 vol de un búfer que contiene: 50 mM imidazol (Sigma I-0125) (pH 7,5), 1 mM mercaptoetanol (Sigma M-3148), 50 mM NaF (Merck ref. 1.06449), 4 mM EDTA (Sigma ED2SS), 0.5 mM PMSF (Sigma P-7626) y 250 mM sacarosa (Sigma S-9378). El homogeneizado se centrifugó a 10 000 g, 30 min, 4 °C (Centrifuge 5810R, Eppendorf) y el sobrenadante se congeló inmediatamente con hielo seco para mantenerlo después a -80 °C hasta posterior análisis. Las actividades enzimáticas se determinaron usando un espectrofotómetro Bio-Tek PowerWave 340 (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA) usando el programa KCjunior Data Analysis Software para Microsoft Windows XP. Las velocidades de reacción se determinaron mediante el aumento o descenso de la absorbancia del NAD(P)H a 340 nm. Las reacciones se llevaron a cabo con 15 μ L de homogeneizado (en duplicado), a una concentración de proteínas determinada, omitiendo el sustrato en los pocillos control, añadiendo una solución de incubación (hasta alcanzar un volumen de 275-295 μ L, dependiendo de la enzima analizada) e incubando las microplacas a 37 °C. Las condiciones específicas para las enzimas piruvato kinasa (PK, EC 2.7.1.40), glucógeno fosforilasa (GPase, EC 2.4.1.1), glutamato deshidrogenasa (GDH, EC 1.4.1.2), aspartato transaminasa (GOT, EC 2.6.1.1) y glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH, EC 1.1.1.8) han sido previamente descritas (Laiz-Carrión *et al.*, 2003; Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2003, 2005; Polakoff *et al.*, 2006), llevándose a cabo los análisis en condiciones de velocidad enzimática óptima para *Rhamdia quelen* (resultados no mostrados). La concentración de proteínas se analizó por triplicado del mismo modo que en plasma.

❖ Estadística

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante ANOVA de una vía para los grupos mantenidos a diferentes densidades y bajo régimen de alimentación diaria, y mediante T-student para comparar los grupos de baja densidad con y sin alimentación.

RESULTADOS

No se encontraron alteraciones significativas en cuanto a peso corporal o a longitud total entre los diferentes tratamientos, pero se apreció una tendencia en estos parámetros a aumentar con la densidad de carga y a disminuir debido al ayuno (Tabla I).

Tabla I.- Peso y longitud de bagre (*Rhamdia quelen*) mantenido a diferentes densidades de cultivo y a baja densidad y ayunas tras 14 días.

Grupo	Peso (g)	Longitud (cm)
Alta	206,67±13,83	27,81±0,71
Media	190,03±13,27	27,62±0,68
Baja	161,41±14,14	26,62±0,71
Baja-Ayuno	138,09±11,23	26,29±0,80

Valores expresados como media± ESM, n=8.

Los ejemplares mantenidos a diferentes densidades y en ayunas no mostraron diferencias en los valores plasmáticos de glucosa, lactato, proteínas o aminoácidos durante el periodo experimental (Tabla II). Los TAG disminuyeron significativamente en el grupo de baja densidad-ayuno respecto del grupo a baja densidad (Tabla II).

Tabla II.- Efectos de diferentes densidades de cultivo y ayuno tras 14 días en parámetros plasmáticos de bagre (*Rhamdia quelen*).

Grupo	Glucosa	Lactato	Triglicéridos	Proteínas	Amino ácidos
Alta	3,38±0,50	1,27±0,17	4,90±0,43	37,62±2,02	17,35±1,28
Meda	3,59±0,35	1,99±0,34	5,99±1,28	37,35±3,10	16,82±1,22
Baja	3,03±0,57	1,88±0,44	4,97±0,70	36,80±2,36	14,34±2,01
Baja-Ayuno	2,21±0,22	1,46±0,29	0,95±0,19*	40,03±1,88	13,95±1,31

Valores expresados como media± ESM, n=8. Glucosa, lactato, TAG y aminoácidos son expresados como mM y las proteínas como mg/mL. * indica diferencias entre los grupos de Baja densidad y Baja-Ayuno (T-student, p<0.05).

A nivel hepático, los niveles de glucosa y glucógeno disminuyeron significativamente en el grupo en ayunas y baja densidad en comparación con el grupo mantenido a baja densidad (Figura 1A y 1B). Los valores de glucógeno mostraron máximos tanto en los grupos mantenidos a mayores densidades (alta y media), mientras que los menores se apreciaron en el grupo de baja densidad (Figura 1B). Los niveles de TAG se incrementaron significativamente en el grupo de media densidad mientras que disminuyeron en el de baja densidad (Figura 1C). Además, el ayuno causó un descenso en los niveles de TAG respecto al grupo alimentado diariamente y mantenido a baja densidad (Figura 1C). No se apreciaron diferencias significativas en los aminoácidos para ninguno de los tratamientos (Figura 1D).

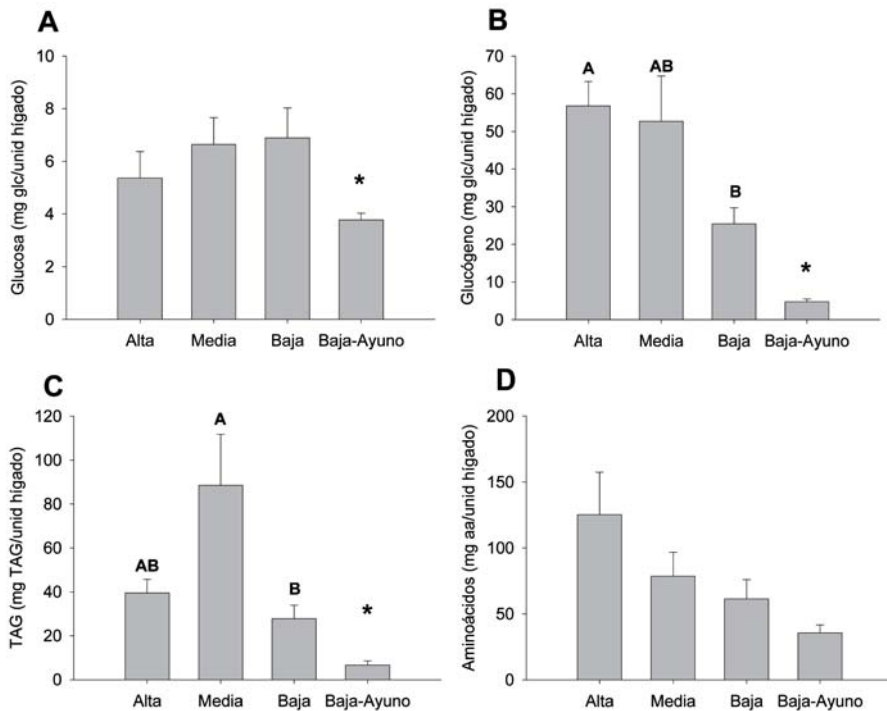


Figura 1.- Valores de glucosa (A), glucógeno (B), triglicéridos (C) y aminoácidos (D) hepáticos en bagre (*Rhamdia quelen*) mantenido a diferentes densidades de cultivo y ayuno tras 14 días. (Media \pm ESM, n=8). Diferentes letras indican diferencias entre grupos a diferente densidad mediante ANOVA de una vía (Test de Tukey, $p < 0,05$), * indica diferencias entre los grupos de Baja densidad y Baja-Ayuno (T-student, $p < 0,05$).

Las actividades de las enzimas PK y GDH presentaron en el grupo a mayor densidad, respecto al resto de grupos, los valores más elevados, sin embargo no se apreciaron diferencias

debido al ayuno (Tabla III). La actividad GPasa mostró valores menores en el grupo de media densidad respecto a los de alta y baja densidad; sin embargo, el grupo mantenido a baja densidad y sometido a ayuno presentó una actividad significativamente mayor a todos ellos (Tabla III). La actividad de la GOT y la G3PDH fue menor en el grupo de alta densidad respecto a los mantenidos a media y baja. Finalmente, la actividad GOT se incrementó significativamente en el grupo en ayunas respecto al grupo alimentado, pero no ocurrió así para la G3PDH (Tabla III).

Tabla III.- Efectos de diferentes densidades de cultivo y ayuno tras 14 días sobre la actividad de diversas enzimas metabólicas en hígado de bagre (*Rhamdia quelen*).

Grupo	PK	GPasa	GDH	GOT	G3PDH
Alta	6,06±0,52 ^A	1,11±0,18 ^{AB}	8,42±0,92 ^A	11,59±0,67 ^B	2,57±0,37 ^B
Media	2,89±0,30 ^C	0,75±0,15 ^B	3,19±0,52 ^B	39,70±4,31 ^A	8,10±1,25 ^A
Baja	4,59±0,31 ^B	1,28±0,09 ^A	2,30±0,33 ^B	45,57±3,10 ^A	11,50±0,99 ^A
Baja-Ayuno	4,63±0,49	2,42±0,18 [*]	2,11±0,29	71,17±7,24 [*]	12,82±1,85

Valores dados como Media ± ESM, n=8. Las actividades vienen expresadas como U/mg proteína. Diferentes letras indican diferencias entre grupos a diferente densidad mediante ANOVA de una vía (Test de Tukey, p<0,05), * indica diferencias entre los grupos de Baja densidad y Baja-Ayuno (T-student, p<0,05).

DISCUSIÓN

Una densidad de cultivo de peces inadecuada puede llevar a una situación de estrés, afectando al comportamiento y fisiología de los mismos (Montero *et al.*, 1999, Ellis *et al.*, 2002, Herrera *et al.*, 2012). De los resultados derivados del presente estudio no se aprecian diferencias significativas entre los grupos mantenidos a diferentes densidades durante dos semanas en cuanto a tamaño o peso. Observaciones similares han sido descritas por Costas *et al.* (2008) en juveniles de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) mantenidos a densidades de 3,1, 6,1 y 9,1 kg/ m³, donde no se aprecian diferencias significativas en el crecimiento. Sin embargo, nuestros resultados muestran una tendencia a aumentar el crecimiento de los peces en el grupo de mayor densidad, y sugieren que un mayor tiempo de experimentación hubiera

podido ampliar las diferencias de peso observadas. Esta relación inversa entre densidad de cultivo y crecimiento puede ser atribuida al comportamiento de los animales, pues los ejemplares mantenidos a alta densidad consumían rápidamente toda la comida suministrada, mientras que los animales del grupo de baja densidad tardaban algo más de tiempo, lo que puede ser debido a una menor competencia por la comida debido al reducido número de animales (Piaia and Baldisserotto, 2000).

Los niveles de metabolitos plasmáticos se mantienen constantes entre las diferentes densidades de cultivo, lo que sugiere una regulación homeostática efectiva (Wendelaar Bonga, 1997). Por otro lado, se observa un descenso en los TAG plasmáticos en el grupo en ayunas, que concuerda con lo descrito por Polakoff *et al.* (2006) para la dorada (*Sparus auratus*) tras someterla a 14 días de ayuno. Esto sugiere que dicha condición experimental afecta a las rutas metabólicas relacionadas con el metabolismo de lípidos y la movilización de TAG, de modo que pueda afrontarse el aumento en la demanda energética impuesta por esta situación de estrés.

Tanto la concentración de glucógeno como la de glucosa hepática disminuían en el grupo de baja densidad-ayuno comparado con el grupo a baja densidad. El glucógeno es la forma en que los carbohidratos se almacenan en el hígado y, cuando se requiere, se rompe enzimáticamente para ser transportado a tejidos periféricos en forma de glucosa, constituyendo el sustrato que generalmente se consume de manera preferencial durante el ayuno (Navarro and Gutiérrez, 1995). Esto puede explicar el descenso en hígado del glucógeno al final del experimento en el grupo en ayunas, sugiriendo un incremento de la actividad de glucogenólisis en el mismo, así como un incremento en los procesos de exportación de la glucosa al resto de los tejidos. Por otro lado los valores de glucosa y glucógeno hepático mostraron una relación inversa respecto a la densidad de cultivo, sugiriendo que las bajas densidades (con bajos valores de glucógeno y altos de glucosa) podría suponer una situación de estrés para el ejemplar, que se vería reflejado en un menor crecimiento (Tabla I).

El incremento en la capacidad de utilización de la glucosa en los peces mantenidos en alta densidad está aparentemente dirigido hacia el almacenamiento de la misma en forma de glucógeno, como demuestran los altos niveles del mismo en este grupo, así como al uso a través de la glucólisis, tal y como sugiere la alta actividad de la enzima PK. También se observó un elevado potencial glucogenolítico en el hígado del grupo en ayunas tal y como muestra el descenso en glucógeno y el aumento en la actividad GPasa. Un incremento similar se observó en la dorada (*S. auratus*) tras un ayuno de 14 días (Sangiao-Alvarellos *et al.*, 2005).

Nuestros resultados muestran un marcado aumento en la capacidad de oxidación de

aminoácidos en el hígado en los peces mantenidos en alta densidad, tal y como se indica la elevada actividad de la GDH en ellos. En este grupo también se observa la actividad más baja de la enzima GOT, lo que es indicativo de unas condiciones metabólicas mejores que en el resto de grupos ya que la activación de esta enzima puede ser indicativo de daño metabólico (Kumar *et al.*, 2011). Por el contrario, el grupo en ayunas mostró los niveles más elevados de esta enzima GOT posiblemente debido a daño hepático, lo que indica la existencia de una situación de estrés en este grupo. Respecto al metabolismo de lípidos, los valores de la enzima G3PDH pueden estar relacionados con la acumulación de TAG a modo de reserva, como es el caso del grupo mantenido a media densidad, o a su consumo, como en los grupos mantenidos a baja densidad.

Así pues, las condiciones de alta y media densidad parecen favorecer el almacenamiento de metabolitos en el hígado, así como de rutas anabólicas. Sin embargo, eso ocurre de manera diferencial entre ambos grupos, puesto que los peces mantenidos a alta densidad parecen almacenar la energía en forma de glucógeno, mientras que los mantenidos a media densidad lo hacen en forma de triglicéridos.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio se ha descrito que el bagre, *Rhamdia quelen*, mantenido a una densidad de cultivo considerada alta para otras especies de peces (32 kg/m³), no parece estar sometido a condiciones de estrés al menos durante un periodo de 14 días, tal y como sugiere el análisis de parámetros relacionados con el metabolismo energético. Este grupo presentó unas actividades enzimáticas y unos niveles de glucógeno hepáticos que favorecen más el crecimiento de los animales respecto al resto de grupos experimentales probados. Por tanto, se puede concluir que para *Rhamdia quelen*, los mejores crecimientos se obtienen en altas densidades de cultivo debido a la naturaleza gregaria que esta especie presenta. Más aún, los animales en ayunas se encuentran sometidos a una situación de estrés que moviliza sus reservas metabólicas, pudiendo llegar a frenar su crecimiento corporal.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por becas de la Agencia Brasileña CAPES a través del programa “Coordenação de Apoio ao Pessoal de Ensino Superior” otorgado a VLL y CCM (Ref: 1585-12-6), y por el Proyecto AGL2010-14876 (Ministerio de Ciencia y Educación, España) otorgado a JMM.

REFERENCIAS

- Baldisserotto B. 2009. Freshwater fish culture in Rio Grande do Sul State: actual situation, problems and future perspectives. *Ciências. Rural* 39: 291-299.
- Barcellos L.J.G., Marqueze A., Trapp M., Quevedo R.M., Ferreira D. 2010. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 300: 231-236.
- Barcellos L.J.G., Volpato G.L., Barreto R.E., Coldebella I., Ferreira D. 2011. Chemical communication of handling in fish. *Physiol. Behav.* 103: 372-375.
- Björnsson B., Steinarsson A., Oddgeirsson M., Ólafsdóttir S.R. 2012. Optimal stocking density of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) reared in a land-based farm. *Aquaculture* 356-357: 342-350.
- Costas B., Aragao C., Mancera J.M., Dinis M.T., Conceicao L.E.C. 2008. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. *Aquacult. Res.* 39: 1-9.
- de Amorin M.P., Gomes B.V.C., Martins Y.S., Sato Y., Rizzo E., Bazzoli N. 2009. Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces: Heptapteridae) from the São Francisco River Basin, Brazil. *Aquacult. Res.* 40: 172-180.
- Daniels H.V., Berlinsky D.L., Hodson R.G., Sullivan C.V. 1996. Effects of stocking density, salinity, and light intensity on growth and survival of southern flounder *Paralichthys lethostigma* larvae. *J. World Aquacult. Soc.* 27: 153-159.
- Ellis T., North B., Scott A.P., Bromage N.R., Porter M., Gadd D. 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J. Fish Biol.* 61: 493-531.
- Herrera M., Vargas-Chacoff L., Hachero I., Ruiz-Jarabo I., Rodiles A., Navas J.I., Mancera

- J.M. 2009. Physiological responses of juvenile wedge sole *Dicologlossa cuneata* (Moreau) to high stocking density. *Aquacult. Res.* 40: 790–797.
- Kepler D., Decker K. 1974. Glycogen. Determination with amyloglucosidase. In: Bergmeyer HU (ed.). *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press. pp. 127–1131.
- Kumar A., Sharma B., Pandey R.S. 2011. Cypermethrin induced alterations in nitrogen metabolism in freshwater fishes. *Chemosphere* 83: 492-501.
- Laiz-Carrión R., Martín del Río M.P., Míguez J.M., Mancera J.M., Soengas J.L. 2003. Influence of cortisol on osmoregulation and energy metabolism in gilthead sea bream *Sparus aurata*. *J. Exp. Zool.* 298A: 105–118.
- Laiz-Carrión R., Viana I.R., Cejas J.R., Ruiz-Jarabo I., Jerez S., Martos J.A., Eduardo A.B., Mancera J.M. 2012. Influence of food deprivation and high stocking density on energetic metabolism and stress response in red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquacult. Internat.* 20: 585-599.
- Martínez-Cárdenas L., Purser G.J. 2012. Effect of stocking density and photoperiod on growth and survival in cultured early juvenile pot-bellied seahorses *Hippocampus abdominalis* Lesson, 1827. *Aquacult. Res.* 43: 1536-1549.
- Moore S. 1968. Amino acids analysis: Aqueous dimethyl sulfoxide as solvent for the ninhydrin reaction. *J. Biol. Chem.* 243: 6281-6283.
- Montero D., Izquierdo M.S., Tort L., Robaina L., Vergara J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20: 53–60.
- Navarro I, Gutiérrez J. 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (eds.). *Metabolic biochemistry, biochemistry and molecular biology of fishes*. Elsevier, Amsterdam, pp. 392–434.
- Polakof S., Arjona F.J., Sangiao-Alvarellos S., Martín del Río M.P., Mancera J.M., Soengas J.L. 2006. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *J. Comp. Physiol. B* 176: 441-452.
- Sangiao-Alvarellos S., Laiz-Carrión R., Guzmán J.M., Martín del Río M.P., Mancera J.M., Soengas J.L. 2003. Acclimation of *Sparus aurata* to various salinities alters energy metabolism of osmoregulatory and nonosmoregulatory organs. *Am. J. Physiol.* 285: R897-R907.
- Sangiao-Alvarellos S., Guzmán J.M., Laiz-Carrión R., Míguez J.M., Martín del Río M.P., Mancera J.M., Soengas J.L. 2005. Interactive effects of high stocking density and food deprivation on carbohydrate metabolism in several tissues of gilthead sea

bream (*Sparus aurata* L.). *J. Exp. Zool.* 303: 761–775.

Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews* 7: 591-625.



Influencia de la densidad de carga sobre el metabolismo energético en juveniles de bagre (*Rhamdia quelen*)

Menezes, C.C. (1), Ruiz-Jarabo, I. (2), Toni, C. (3), Salbego, J. (3), Becker, A. (3), Cunha, M.A. (3), Loro, V.L. (1), Baldissarroto, B. (3), Mancera, J.M. (4)

1 Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS - Brasil
 2 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz)
 3 Departamento de Fisiología e Farmacología, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS - Brasil

INTRODUCCIÓN

La densidad óptima de cultivo es específica para cada especie de teleosteo, dependiendo de otros factores como alimentación, potencial de crecimiento, edad, tamaño de los animales, etc (Daniels et al., 1996; Björnsson et al., 2012), pero el uso de elevadas densidades de cultivo en acuicultura es necesario para obtener una producción económica eficiente y rentable (Martínez-Cárdenas y Pursar, 2012). En muchas ocasiones, la alta densidad de cultivo puede considerarse un agente estresante, causando efectos negativos sobre el crecimiento, metabolismo, parámetros fisiológicos y bioquímicos (Sangio-Alvarellos et al., 2005; Herrera et al., 2009). El ayuno es también un tipo de estrés bastante común en los peces.

El bagre (*Rhamdia quelen*) es un pez neotropical que muestra un elevado potencial en la acuicultura del estado de Rio Grande do Sul (Brasil) debido a su elevada tasa de crecimiento, buen rendimiento de la canal, y fácil manejo reproductivo en clima subtropical (Baldissarroto, 2009; de Amorin et al., 2009). Así pues, este trabajo pretende conocer los efectos de diferentes densidades de cultivo y regímenes de alimentación sobre diversos parámetros bioquímicos y fisiológicos en bagre (*Rhamdia quelen*), aportando conocimiento para el cultivo de esta especie de teleosteo.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue investigar los efectos de diferentes densidades de carga, además del efecto del ayuno, sobre diversos parámetros bioquímicos y fisiológicos, tanto a nivel plasmático como hepático en juveniles bagre (*Rhamdia quelen*).

MATERIAL Y METODOS

Se testaron cuatro grupos experimentales en duplicado

Alta densidad (AD) - 32 kg/m³
 Media densidad (MD) - 16 kg/m³
 Baja densidad (BD) - 8 kg/m³
 Baja densidad (BD-A) - 8 kg/m³

Alimentados diariamente
 14 días de exposición
 Ayuno



Metabolitos

Glucosa
 Triglicéridos
 Lactato
 Proteína Total: kit comercial de Thermo
 Aminoácidos: Método de Moore (1968)
 Glucógeno: Kessler y Decker (1974)



Muestra de plasma e hígado

Enzimas metabólicas

Pinruvato Kinasa (PK)
 Glucógeno fosforilasa (GPasa)
 Glutamato deshidrogenasa (GDH)
 Aspartato amino-transferasa (GOT)
 Glicerol 3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH)



Muestra de hígado



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Peso y longitud de bagre (*Rhamdia quelen*) mantenido a diferentes densidades de cultivo y a baja densidad y ayunas tras 14 días. Valores expresados como media ± SEM (n=8).

Grupo	Peso (g)	Longitud (cm)
Alta	206.67±13.83	27.81±0.71
Media	190.05±13.37	27.52±0.68
Baja	181.14±14.14	26.62±0.71
Baja-Ayuno	138.09±11.23	26.29±0.80

Tabla 2. Efectos de diferentes densidades de cultivo y ayuno tras 14 días en parámetros plasmáticos de bagre (*Rhamdia quelen*).

Grupo	Glucosa	Lactato	Triglicéridos	Proteínas	Amino ácidos
Alta	3.38±0.50	1.27±0.17	4.90±0.43	37.62±2.02	17.35±1.28
Media	3.59±0.35	1.99±0.34	5.99±1.28	37.35±3.10	16.82±1.22
Baja	3.03±0.57	1.86±0.44	4.87±0.70	36.80±2.36	14.34±2.51
Baja-Ayuno	2.27±0.22	1.46±0.29	0.85±0.19	40.03±1.88	13.95±1.31

Tabla 3. Efectos de diferentes densidades de cultivo y ayuno tras 14 días sobre la actividad de diversas enzimas metabólicas en hígado de bagre (*Rhamdia quelen*).

Grupo	PK	GPasa	GDH	GOT	G3PDH
Alta	6.09±0.52*	1.11±0.19**	1.42±0.52*	11.59±0.61*	2.97±0.31*
Media	2.88±0.30*	0.78±0.19*	3.19±0.52*	39.70±4.31*	8.10±1.25*
Baja	4.59±0.31*	1.28±0.09*	2.30±0.33*	45.57±3.10*	11.50±0.99*
Baja-Ayuno	4.63±0.49	2.42±0.19*	2.11±0.29	71.17±7.24*	12.62±1.80

Valores dados como Media ± ESM, n=8. Las actividades vienen expresadas como Umg proteína. Diferentes letras indican diferencias entre grupos a diferencia densidad mediante ANOVA de una vía (Test de Tukey, p<0.05). * indica diferencias entre los grupos de Baja densidad y Baja-Ayuno (*tudent, p<0.05).

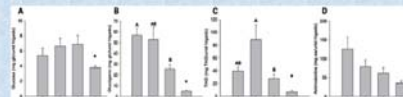


Figura 1. Valores de glucosa (A), glucógeno (B), triglicéridos (C) y aminoácidos (D) hepáticos en bagre (*Rhamdia quelen*) mantenido a diferentes densidades de cultivo y ayuno tras 14 días. (Media ± ESM, n=8). Diferentes letras indican diferencias entre grupos a diferente densidad mediante ANOVA de una vía (Test de Tukey, p<0.05). * indica diferencias entre los grupos de Baja densidad y Baja-Ayuno (*tudent, p<0.05).

CONCLUSIÓN

En el presente estudio se ha descrito que el bagre, mantenido a una alta densidad de cultivo, no parece estar sometido a condiciones de estrés al menos durante un periodo de 14 días, tal y como sugiere el análisis de parámetros relacionados con el metabolismo energético. Esto puede estar relacionado con la naturaleza gregaria de esta especie. Más aún, los animales en ayunas se encuentran sometidos a una situación de estrés que moviliza sus reservas metabólicas, pudiendo llegar a frenar su crecimiento corporal.

REFERENCIAS

Baldissarroto, B. 2009. *Ciências Rurais* 29: 291-299.
 Björnsson, B. et al. 2012. *Aquaculture* 356-357: 342-350.
 Daniels R.V. et al. 1996. *Journal of the World Aquaculture Society* 27: 153-159.
 de Amorin, M.P. et al. 2009. *Aquaculture Research* 40: 172-180.
 Herrera, M. et al. 2009. *Aquaculture Research* 40: 790-797.
 Martínez-Cárdenas, L. and Pursar, G.J. 2012. *Aquaculture Research* 43: 1536-1548.
 Sangio-Alvarellos, B. et al. 2005. *Journal Experimental Zoology* 303: 761-775.

Influencia de la salinidad ambiental sobre la capacidad proteolítica de la liseta (*Chelon labrosus*)

Pujante¹ I.M., Mancera¹ J.M., Moyano² F.J.

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz, España

²Departamento de Biología Aplicada, Escuela Politécnica, Universidad de Almería, 04120 La Cañada de San Urbano, Almería, España

RESUMEN

La liseta (*Chelon labrosus*) es una de las especies más representativas del cultivo en estero de la Bahía de Cádiz. Los esteros son zonas sujetas a grandes cambios ambientales dependiendo de la climatología, y estas alteraciones pueden influir en el estado fisiológico y nutricional de los organismos. El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de la salinidad ambiental sobre la capacidad proteolítica del sistema digestivo de *C. labrosus*, con el fin de profundizar más en la interacción entre los procesos de osmorregulación y digestión. Para ello se distribuyeron 48 juveniles de liseta (44 ± 2 g de peso inicial) en tanques con distintas salinidades ambientales (0, 12, 40 y 55 ppt, 12 individuos por grupo experimental) que fueron mantenidos en circuito cerrado durante 21 días y alimentados al 1 % de su peso. Al final del experimento fueron pesados y medidos, tomándose muestras de digestivo (esófago y estómago por un lado, y ciegos pilóricos, duodeno e intestino proximal por otro) para la determinación de actividades enzimáticas digestivas y para el estudio, mediante ensayos de hidrólisis *in vitro*, de estos extractos enzimáticos. Los resultados obtenidos mostraron un claro efecto de la salinidad ambiental sobre la capacidad digestiva. La actividad pepsina disminuía significativamente a medida que aumentaba la salinidad, al contrario que la actividad de las proteasas alcalinas totales, que mostró un máximo a 40 ppt, para disminuir a 55 ppt. En cuanto a la actividad proteolítica, los valores máximos de hidrólisis se midieron a 12 ppt y

disminuyeron al aumentar la salinidad del medio. Por tanto, se concluye que salinidades bajas parecen favorecer el proceso de hidrólisis proteica por parte de las enzimas de *C. labrosus*, siendo un valor próximo a 12 ppt el óptimo para una digestión eficiente. Por el contrario, el incremento de la salinidad ambiental puede afectar negativamente a la actividad de las enzimas digestivas, así como a la capacidad proteolítica del sistema digestivo en esta especie.

PALABRAS CLAVE

Chelon labrosus, salinidad, actividad proteolítica.

INTRODUCCIÓN

La Bahía de Cádiz se caracteriza por el cultivo en estero, siendo la liseta (*Chelon labrosus*, Risso, 1827) una de las especies más representativas en esta región. La liseta es un teleósteo marino de la familia Mugilidae que presenta ciclos de vida anfidromos, migrando entre áreas de distinta salinidad ambiental dependiendo de su ciclo de vida (Cardona, 2006). Las aguas estuáricas están sujetas a grandes cambios ambientales en función de las condiciones climatológicas. Estas alteraciones pueden influir en el estado fisiológico y nutricional del animal, ya que para aclimatarse al agua de mar, el espécimen bebe agua para compensar la pérdida osmótica de iones, siendo este proceso inevitable durante la alimentación. De este modo, la ingesta de comida puede causar cambios en el balance iónico del intestino debido a i) la alcalinidad del agua de mar, y ii) la ingesta de sal en la dieta. Este hecho hace que el intestino actúe tanto como un órgano procesador de comida, como un órgano osmorregulador (Bucking and Wood, 2006a,b). Además, el agua de mar puede actuar directamente sobre el rendimiento físico de las enzimas digestivas (Boeuf and Payan, 2001).

Las enzimas digestivas son un factor clave para determinar la digestibilidad. Las proteasas son un componente muy importante en el sistema digestivo, siendo las responsables del procesado de la proteína dietaria. Estas enzimas se caracterizan por unas estructuras funcionalmente específicas y sus sustratos de preferencia son mantenidos a través de interacciones iónicas entre regiones enzimáticas y el medio circundante (Barrett *et al.*, 2004). El efecto de la salinidad sobre la capacidad digestiva ha sido estudiado en una

amplia variedad de especies de teleósteos: *Sparus aurata*, *Dicentrarchus labrax*, *Mugil cephalus*, etc. (Moutou *et al.*, 2004; Psochiou *et al.*, 2007; Nikolopoulou *et al.*, 2011). Sin embargo, existe muy poca información sobre este aspecto en el grupo de los Mugílidos (Barman *et al.*, 2005).

La exposición a ambientes con distinta salinidad produce cambios en las tasas de consumo (Usher *et al.*, 1990), y es posible que modifique la actividad enzimática. Por ello, el objetivo principal de este trabajo fue determinar la influencia de la salinidad sobre la capacidad proteolítica de la liseta. Adicionalmente, fueron analizadas algunas enzimas digestivas en diferentes porciones del sistema digestivo para revelar su importancia en el proceso proteolítico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales (Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España), con juveniles de liseta ($n = 48$, peso medio inicial de 44 ± 2 g) suministrados por el Estero Leocadia (Cádiz, España) y aclimatados en la Planta de Cultivos Marinos (CASEM, Universidad de Cádiz, España). Los animales fueron medidos, pesados y distribuidos aleatoriamente en 4 tanques de 400 L ($n = 12$ animales por grupo) con diferentes salinidades ambientales (0, 12, 40 y 55 ppt). Los especímenes fueron mantenidos durante 21 días en un sistema cerrado de recirculación bajo condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura ($18.5-19$ °C), alimentándose al 1 % de su peso. Todos los grupos ayunaron 24 horas antes de los muestreos. Al final del ensayo, los ejemplares fueron sacrificados, pesados y medidos. Se les extrajo el sistema digestivo completo, se limpió y se separó en dos porciones: i) esófago y estómago por una parte, y ii) ciegos pilóricos, duodeno e intestino proximal por otra. Estos tejidos fueron utilizados para preparar extractos semipurificados, mediante homogenización con agua destilada (1:5 p/v) seguida de centrifugación ($12.000 \times g$, 4°C , 20 min), siendo posteriormente almacenados a -80°C hasta su empleo en los análisis. La actividad pepsina fue determinada en los extractos estomacales, y la actividad de las proteasas alcalinas totales se midió en los extractos intestinales. Por otra parte, se realizó una digestión alcalina *in vitro* con los extractos intestinales empleando el modelo gastrointestinal de celda semipermeable descrito en Hamdan *et al.* (2009). Se realizaron ensayos en los que el medio tamponado a pH 8.0 presentaba además diferentes concentraciones de ClNa (0, 12, 40 y 55 ppt), empleando como sustrato un pienso con un 63 % de proteína cruda. Para complementar los resultados se midieron el pH y la solubilidad de la proteína durante el proceso digestivo en cada salinidad ambiental.

Las diferencias estadísticas entre los grupos fueron testadas con un ANOVA de una vía usando la salinidad ambiental como factor de varianza. La homogeneidad de las varianzas fue analizada con el test de Levene's. Para un $P < 0,05$, las medias eran comparadas mediante el test de Tuckey.

RESULTADOS

La tabla I presenta el crecimiento de los juveniles de liseta aclimatados a las distintas salinidades ambientales durante 21 días. No se apreciaron diferencias significativas entre los grupos mantenidos en diferentes salinidades ambientales, aunque el grupo aclimatado a agua dulce (0 ppt) presentó una disminución de peso.

Tabla I.- Parámetros biométricos de los individuos de *C. labrosus* aclimatados a diferentes salinidades durante 21 días. Los datos son presentados como media \pm SEM (n= 12).

	0 ppt	12 ppt	40 ppt	55 ppt
Peso inicial (g)	44,1 \pm 2,0	44,3 \pm 2,1	44,9 \pm 2,0	44,0 \pm 2,1
Talla inicial (cm)	14,9 \pm 0,2	14,7 \pm 0,2	14,9 \pm 0,2	14,7 \pm 0,2
Peso final (g)	39,7 \pm 1,7	44,6 \pm 2,2	44,6 \pm 1,5	43,8 \pm 1,8
Talla final (cm)	14,9 \pm 0,2	15,2 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2	14,8 \pm 0,2

La actividad enzimática evaluada en los distintos grupos experimentales mostró diferencias según la salinidad ambiental. La actividad pepsina (Fig. 1A) reveló niveles significativamente superiores en el grupo aclimatado a 0 ppt, disminuyendo linealmente a medida que aumentaba la salinidad ambiental. Por su parte, las proteasas alcalinas totales mostraron un incremento de actividad vinculado al aumento de la salinidad ambiental, siendo superior en el grupo aclimatado a agua de mar (40 ppt). Sin embargo, el grupo de alta salinidad (55 ppt) mostró una disminución significativa de la actividad (Fig. 1B).

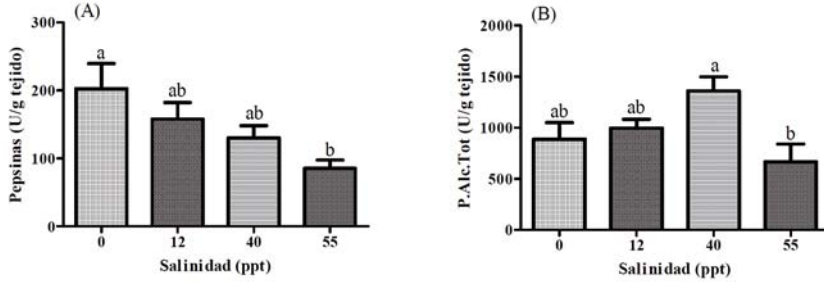


Figura 1.- (A) Actividad pepsina (U/ g de tejido) determinada en el extracto estomacal de ejemplares de *C.labrosus* aclimatados a las diferentes salinidades. **(B)** Actividad de las proteasas alcalinas totales (U/ g de tejido) analizada en el extracto intestinal de ejemplares de *C. labrosus* aclimatados a diferentes salinidades. Los datos son presentados como media \pm SEM (n= 12). Diferentes superíndices indican significancia entre los grupos ($P < 0,05$).

En el ensayo de digestibilidad *in vitro* de un solo paso (hidrólisis alcalina) los resultados indican una mayor digestibilidad en ambientes salinos del 12 ppt, mientras que en el medio hipersalino (55 ppt), la biodisponibilidad de aminoácidos fue menor (Figura 2A y 2B).

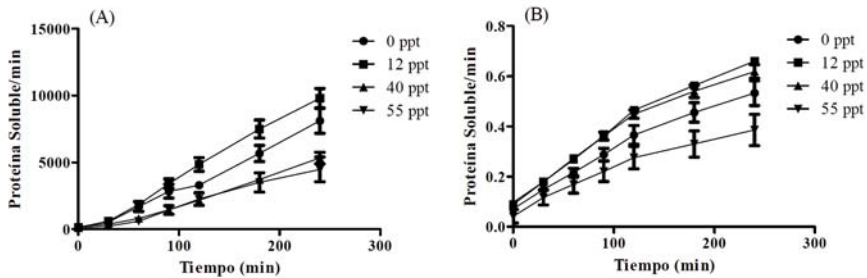


Figura 2.- (A) Cinética de los aminoácidos liberados en las distintas salinidades durante la digestión *in vitro* con extractos de digestivo de ejemplares de *C. labrosus*. **(B)** Solubilidad de la proteína cruda a diferentes salinidades ambientales durante el proceso de digestión.

Por su parte, los resultados de la digestión en las distintas salinidades mostraron una mayor liberación de aminoácidos a bajas salinidades (0 y 12 ppt); mientras que al aumentar la salinidad ambiental, la liberación de aminoácidos disminuyó significativamente (Fig. 3A). Al comparar los resultados de actividad total entre las distintas enzimas y el producto final

de la digestión (Fig. 3B), se observó que el medio isosmótico (12 ppt) es el óptimo para una eficiente asimilación proteica.

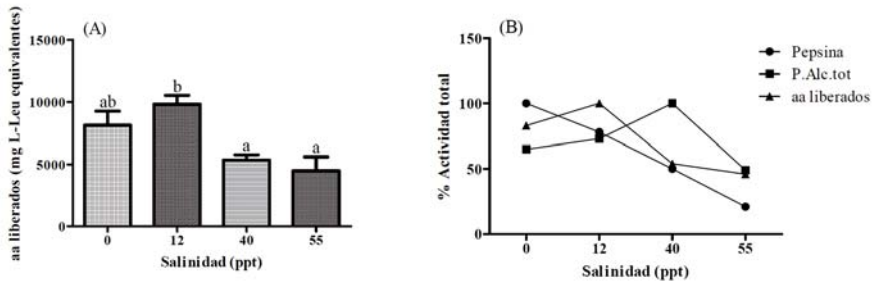


Figura 3.- (A) Aminoácidos totales liberados a diferentes salinidades ambientales tras 4 horas de digestión con extractos digestivos de juveniles de *C. labrosus*. Los datos son presentados como media \pm SEM ($n=12$). Diferentes superíndices indican significancia entre los grupos ($P < 0,05$). (B) Comparativa de la actividad total entre las distintas enzimas digestivas y el producto de la digestión *in vitro*.

DISCUSIÓN

Los resultados de crecimiento no muestran diferencias significativas entre grupos, posiblemente debido a la corta duración del periodo experimental. Estos resultados coinciden con los obtenidos en ejemplares de la misma especie por Pujante *et al.* (2011), quienes observaron que 12 ppt era la salinidad óptima para el crecimiento, mientras que un aumento de la salinidad ambiental (40-55 ppt) no afectaba al crecimiento. Sin embargo, estudios realizados en *Mugil cephalus* mostraban un mayor crecimiento en ambientes isosmóticos (10 ppt) y a medida que se incrementaba la salinidad ambiental (20-25 ppt) empeoraba el crecimiento (Barman *et al.*, 2005).

Los resultados mostraron una clara influencia de la salinidad ambiental en los perfiles de actividad enzimática evaluados en los distintos grupos. En los especímenes de *C. labrosus* la actividad pepsina disminuía linealmente a medida que aumentaba la salinidad ambiental. Se sabe que la pepsina se activa en un medio ácido, como es el caso del estómago (Alarcón *et al.*, 1998), por lo que el incremento de sales en el agua aumentaría el pH gastrointestinal,

alcalinizándolo y reduciendo la actividad proteolítica de esta enzima. Estos datos indican que en ambientes hipersalinos (55 ppt), la pepsina no puede trabajar con total eficiencia. Las proteasas alcalinas mostraban una relación en forma de U invertida respecto a la salinidad ambiental, con los máximos valores en ambientes de 40 ppt. Estas enzimas trabajan en medios alcalinos, como es el caso del intestino (Alarcón *et al.*, 1998), de ahí su aumento de actividad a mayores salinidades, sin embargo, una adición excesiva de sales en el agua reduce drásticamente la acción proteolítica. Por tanto, en ambientes hipersalinos (55 ppt), las proteasas alcalinas se comportan igual que las pepsinas. Estos resultados coinciden con los publicados en dorada por Moutou *et al.* (2004), donde la actividad de las proteasas también se veía afectada negativamente por la salinidad ambiental. Las proteasas digestivas son sintetizadas como zimógenos inactivos en las células pancreáticas y son activadas por proteólisis específica tras su liberación en el lumen intestinal, siendo la tripsina el activador de la mayoría de los zimógenos (Berg *et al.*, 2002). Por tanto, cambios en la salinidad pueden llegar a influenciar la activación del zimógeno, ya que este proceso tiene lugar en el lumen (Moutou *et al.*, 2004). Existen estudios realizados en teleósteos eurihalinos en los que se relaciona la salinidad con la actividad proteasa, incrementándose la digestibilidad a bajas salinidades (6-7 ppt) (Alliot *et al.*, 1983; Woo and Kelly, 1995; Boeuf and Payan, 2001). Estos autores demostraron que el crecimiento en una salinidad ambiental óptima podía reducir el coste metabólico que conlleva la regulación osmótica y mejorar el crecimiento y utilización del alimento. Además, Barman *et al.* (2005) publicó en otra especie de mugílido (*Mugil cephalus*) que especímenes mantenidos a salinidad intermedia (10 ppt) tenían una mayor digestibilidad, eficiencia alimenticia y actividad proteolítica total.

En este estudio se llevó a cabo un ensayo de digestibilidad *in vitro* de un solo paso (hidrólisis alcalina), ya que la liseta no posee un estómago funcionalmente activo y su pH gástrico está en torno a 5,5 - 6 (Pujante *et al.*, 2012). Este método de digestión en celdas y en sistema abierto, reproduce mejor las condiciones del proceso *in vivo*, detectando pequeñas diferencias en la biodisponibilidad de proteínas (Moyano and Savoie, 2001). Los resultados *in vitro* sugirieron que la alta digestibilidad a 12 ppt podría estar relacionada con la mayor solubilidad del pienso a esta salinidad (Fig. 2A y 2B); sin embargo, la biodisponibilidad de aminoácidos fue menor en el medio hipersalino (55 ppt), Esto nos indica que la hidrólisis no se produce de manera espontánea, por lo que los resultados del proceso de digestión *in vitro* a esta salinidad se podrían tomar como una medida del ratio inicial de la digestión (Bassompierre *et al.*, 1997).

La liberación de aminoácidos a bajas salinidades (0 y 12 ppt) es mayor que en salinidades más altas (40 y 55 ppt). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Woo and Kelly (1995), quienes mostraron que el espárido *Sparus sarba* aumenta su digestibilidad al disminuir la salinidad ambiental. Por tanto, a corto plazo, un descenso en la salinidad afectaría

significativamente a la actividad de las proteasas ácidas en el estómago y a las proteasas alcalinas totales en el intestino, y por otro lado a la liberación de aminoácidos totales, siendo 12 ppt la salinidad óptima para una digestión eficiente. Estos resultados apoyan la idea de que el carácter eurihalino de la liseta depende tanto de los procesos osmorreguladores como de los digestivos, haciéndola más tolerante a los cambios abruptos de salinidad.

Nuestros resultados indican que la respuesta de la bioquímica digestiva de *C. labrosus* a las distintas salinidades ambientales puede ser atribuida a su adaptación a distintos tipos de agua en función del ciclo de vida en el que se encuentre (estuarios, aguas estancadas, desembocaduras de ríos, etc) (Bardach *et al.*, 1972). Además, los mejores resultados en el uso digestivo del alimento por la especie se apreciaron en ambientes isosmóticos (12 ppt); mientras que ambientes hipersalinos (55 ppt) pueden inducir efectos negativos sobre los procesos digestivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Estero Leocadia (Cádiz, España) por el suministro de los animales experimentales y a la Planta de Cultivos Marinos (CASEM, Universidad de Cádiz, España) por mantener los peces durante la aclimatación de los mismos. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2010-14876 del MICINN a JMM. JAM-S con el apoyo de una beca predoctoral (FPU, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación (España).

REFERENCIAS

- Alarcón F.J., Díaz M., Moyano F.J., Abellán E. 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids: gilthead seabream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiol. Biochem.*, 19: 257-267.
- Alliot E., Pastoureaud A., Thebault H. 1983. Influence de la température et de salinité sur la croissance et la composition corporelle d'alevins de *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 31: 181-194.
- Bardach J.F., Ryther J.H., McLarney W.O. 1972. *Aquaculture (the farming and husbandry of fresh water and marine organisms)*. John Wiley and Sons, New York.
- Barman U.K., Jana S.N., Garg S.K., Bhatnagar A., Arasu A.R.T. 2005. Effect of inland water salinity on growth, feed conversion efficiency and intestinal enzyme activity in

- growing grey mullet, *Mugil cephalus* (Linn.): Field and laboratory studies. *Aquacult. Internat.* 13: 241-256.
- Barrett A.J., Rawlings N.D., Woessner J.F. 2004. Handbook of proteolytic enzymes. *Elsevier Academic Press*, Londres.
- Bassompierre M., Børresen T., Sandfeld P., Rønsholdt B., Zimmermann W., McLean E. 1997. An evaluation of open and closed systems for *in vitro* protein digestion of fish meal. *Aquacult. Nutrit.* 3: 153-159.
- Berg J.M., Tymoczki J.L., Stryer L. 2002. *Biochemistry, 5 th edn.* W.H. Freeman, New York, USA, 1500pp.
- Boeuf G., Payan P. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comp. Biochem. Physiol.* 130: 411-423.
- Bucking C., Wood C.M. 2006a. Water dynamics in the digestive tract of the freshwater rainbow trout during the processing of a single meal. *J. Exp. Biol.*, 209: 1883-1893.
- Bucking C., Wood C.M. 2006b. Gastrointestinal processing of Na⁺, Cl⁻ and K⁺ during digestion: implications for homeostatic balance in freshwater rainbow trout. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 291: 1764-1772.
- Cardona L. 2006. Habitat selection by grey mullets (Osteichhyes: Mugilidae) in Mediterranean estuaries: the role of salinity. *Scientia Marina* 70 (3): 443-455.
- Hamdan M., Moyano F.J., Schuhardt D. 2009. Optimization of a gastrointestinal model applicable to the evaluation of bioaccessibility in fish feeds *J. Sci. Food & Agricult.*, 89:1195-1201
- Jobling M. 1995. Environmental Biology of Fishes. *Chapman & Hall*, London.
- Moutou K.A., Panagiotaki P., Mamuris Z., 2004. Effects of salinity on digestive protease activity in the euryhaline sparid *Sparus aurata* L.: a preliminary study. *Aquacult. Res.* 35: 912-914.
- Moyano F.J., Savoie L. 2001. Comparison of *in vitro* systems of protein digestion using either mammal or fish Proteolytic enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.* 128 A: 359-368.
- Nikolopoulou D., Moutou K.A., Fountoulaki E., Venou B., Adamidou S., Alexis M.N. 2011. *Comp. Biochem. Physiol.* 158 A: 406-414.
- Pujante I.M., Martos-Sitcha J.A., Ruiz-Jarabo I., Mancera J.M. 2011. Osmoregulation and energy metabolism in the thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) submitted to different environmental salinities. *IV Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.*, 395-404.
- Pujante I.M., Martos-Sitcha J.A., Yúfera M., Mancera J.M., Martínez-Rodríguez G., Moyano F.J. 2012. Influencia del régimen alimenticio sobre el comportamiento digestivo en juveniles de liseta (*Chelon labrosus*). *V Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.*, Cádiz (en prensa).

- Psochiou E., Mamuris Z., Panagiotaki P., Kouretas D., Moutou K.A. 2007. The response of digestive proteases to abrupt salinity decrease in the euryhaline sparid *Sparus aurata* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 147 B: 156-163.
- Usher M.L., Talbot C., Eddy F.B. 1990. Effects of transfer to seawater on digestion and gut function in Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 90: 85-96.
- Woo N.S.Y., Kelly S.P. 1995. Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolism of *Sparus sarba* in a closed seawater system. *Aquaculture* 135: 229-238.

INFLUENCIA DE LA SALINIDAD AMBIENTAL SOBRE LA CAPACIDAD PROTEOLITICA DE LA LISETA (*Chelon labrosus*)



Isabel Pujante¹, J.M. Mancera² y F.J. Moyano²
E-mail: isabel.pujante@uca.es



(1) Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz, España
(2) Departamento de Biología Aplicada, Escuela Politécnica, Universidad de Almería, 04120 La Cañada de San Urbano, Almería, España

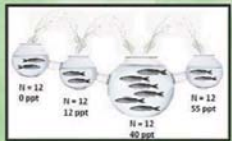


INTRODUCCION

La Bahía de Cádiz se caracteriza por el cultivo en estero, siendo la liseta (*Chelon labrosus*, Risso, 1827) una de las especies más representativas en esta región. Las aguas estuáricas están sujetas a grandes cambios ambientales en función de las condiciones climatológicas. Estas alteraciones pueden influir en el estado fisiológico y nutricional del animal. De este modo, la ingesta de comida puede causar cambios en el balance iónico del intestino debido a i) la alcalinidad del agua de mar, y ii) la ingesta de sal en la dieta. Las enzimas digestivas son un factor clave para determinar la digestibilidad. Las proteasas son un componente muy importante en el sistema digestivo, siendo las responsables del procesamiento de la proteína dietaria. La exposición a ambientes con distinta salinidad produce cambios en las tasas de consumo, y es posible que modifique la actividad enzimática.

El objetivo principal de este trabajo fue determinar la influencia de la salinidad sobre la capacidad proteolítica de la liseta. Además, fueron analizadas algunas enzimas digestivas en diferentes porciones del sistema digestivo para revelar su importancia en el proceso proteolítico.

DISEÑO EXPERIMENTAL



Periodo experimental: 21 días
Peso inicial: 44 ± 1.8 g

MATERIAL Y METODOS

Peso y Longitud



ANALISIS ENZIMATICOS



Actividad pepsina
Actividad proteasas alcalinas totales
Capacidad proteolítica *in vitro*

RESULTADOS

Tabla 1. Parámetros biométricos de los individuos de *C. labrosus* acimados a diferentes salinidades durante 21 días. Los datos son presentados como media ± SEM (n=12).

	0 ppt	12 ppt	40 ppt	55 ppt
Peso inicial (g)	44.1 ± 2.0	44.3 ± 2.1	44.9 ± 2.0	44.8 ± 2.1
Talla inicial (cm)	14.9 ± 0.2	14.7 ± 0.3	14.9 ± 0.3	14.7 ± 0.3
Peso final (g)	39.7 ± 1.7	44.8 ± 2.3	44.9 ± 1.5	43.9 ± 1.8
Talla final (cm)	14.9 ± 0.2	15.2 ± 0.2	15.9 ± 0.2	14.9 ± 0.2

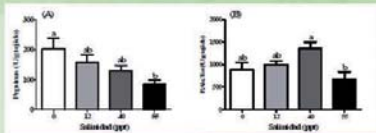


Figura 1. (A) Actividad pepsina (U/g de tejido) determinada en el extracto estomacal de ejemplares de *Chelon labrosus* acimados a las diferentes salinidades. (B) Actividad de las proteasas alcalinas totales (U/g de tejido) analizada en el extracto intestinal de ejemplares de *C. labrosus* acimados a diferentes salinidades.

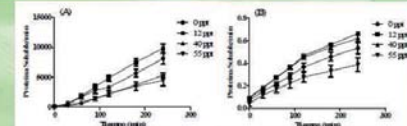


Figura 2. (A) Cinética de los aminoácidos liberados en las distintas salinidades durante la digestión *in vitro* con extractos digestivos de ejemplares de *C. labrosus*. (B) Estabilidad de la proteína suela a diferentes salinidades ambientales durante el proceso de digestión.

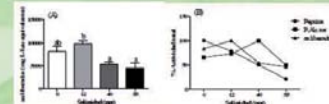


Figura 3. (A) Aminoácidos totales liberados a diferentes salinidades ambientales tras 4 horas de digestión con extractos digestivos de juveniles de *C. labrosus*. Los datos son presentados como media ± SEM (n=12). Diferentes superíndices indican significancia entre los grupos (P < 0.05). (B) Comparación de la actividad total entre las distintas enzimas digestivas y el producto de la digestión *in vitro*.

CONCLUSIONES

1. La respuesta de la bioquímica digestiva de *C. labrosus* a las distintas salinidades ambientales puede ser atribuida a su adaptación a distintos tipos de agua en función del ciclo de vida en el que se encuentre (estuarias, aguas estancadas, desembocaduras de ríos, etc).
2. *Chelon labrosus* mostró los mejores resultados en el uso digestivo del alimento en ambientes isosmóticos (12 ppt).
3. Ambientes hipersalinos (55 ppt) pueden inducir efectos negativos sobre los procesos digestivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Estero Leoncáfila (Cádiz, España) por el suministro de los animales experimentales y a la Planta de Cultivos Marinos (CASEM, Universidad de Cádiz, España) por mantener los peces durante la acimatación de los mismos. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2010-14876 del MICRIN y JMA, JAM-5 con el apoyo de una beca predoctoral (PPII, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación (España).

Influencia de las bases orgánicas sobre la cuantificación de la alcalinidad total en el agua de mar de sistemas de elevada productividad primaria

Valiente S., Gurgel H., Forja J., Ortega T.

Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Campus Río San Pedro s/n, 11510 Puerto Real (Cádiz), España
s.valienterod@gmail.com

RESUMEN

Se ha investigado la contribución de compuestos orgánicos disueltos sobre el valor de la alcalinidad total (AT) y carbono inorgánico disuelto (CID) en sistemas con una alta densidad de fitoplancton. Para ello, se ha estudiado esta contribución en tres zonas costeras seleccionadas del Parque Natural Bahía de Cádiz (Río San Pedro, Caño de Sancti Petri y Río Guadalete) en cultivos de microalgas (*Tetraselmis chuii* y *Nannochloris atomus*) y en agua de mar a la que se le ha adicionado cantidades conocidas de dos bases orgánicas representativas de los productos de exudación de microalgas marinas: glicina y L-histidina. Con objeto de caracterizar las bases orgánicas y los pKas de sus grupos funcionales, se ha desarrollado una metodología que incluye una valoración inicial con HCl y una posterior valoración por retroceso con NaOH.

Las muestras procedentes de cultivos de microalgas corresponden a densidades comprendidas entre $6 - 80 \times 10^4$ cel mL⁻¹ para *T. chuii* y entre $15-100 \times 10^6$ cel mL⁻¹ para *N. atomus*. Se ha encontrado un aumento continuo de AT, CID, densidad celular y biomasa a lo largo de los cultivos de estas 2 microalgas. La contribución de las bases orgánicas a la alcalinidad depende de cada microalga. La comparación de esta contribución para las 2 microalgas pone de manifiesto la importancia de la dependencia del tamaño celular y la tasa de crecimiento

sobre la exudación al medio de compuestos orgánicos que va a afectar a la AT del sistema. En los sistemas naturales estudiados, las bases orgánicas contribuyen al valor de AT hasta un valor de 100 μM , mientras que en los cultivos intensivos de microalgas este aporte llegar a ser de un orden de magnitud superior. En la adición de las bases orgánicas al agua de mar, se ha encontrado un aumento de los valores de AT y CID que varían de forma lineal con la concentración de base en el medio y depende fundamentalmente del pK_a de sus grupos funcionales.

PALABRAS CLAVE

Alcalinidad total, bases orgánicas, carbono inorgánico disuelto.

INTRODUCCIÓN

En sistemas con una alta productividad, como son las zonas costeras y los cultivos de microalgas, la materia orgánica puede afectar a los valores de alcalinidad total (AT). Por ello es importante evaluar las posibles fuentes de error introducidas por la presencia de estas sustancias en la cuantificación de AT con el fin de realizar las correcciones adecuadas a los valores de AT con objeto de obtener una cuantificación más precisa del carbono inorgánico disuelto (CID) en estos medios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la cuantificación de AT se realizaron valoraciones potenciométricas. Esta se cuantificó a partir del segundo punto de equivalencia mediante la aplicación de una función de Gran a la parte ácida de la curva de valoración. El algoritmo matemático de cálculo contempla la influencia de los principales equilibrios ácido-base sobre el valor de la concentración de carbono inorgánico (Ortega, 2001). La contribución de las bases orgánicas sobre el valor de AT se ha denominado “alcalinidad orgánica” (A.Org) y se obtiene como diferencia entre AT y alcalinidad total corregida (AT_c), que se calculó a partir de los valores de CID y pH inicial de las muestras. (Hernández-Ayon *et al.*, 2007)

Se utilizaron tres sistemas de estudio zonas costeras del parque natural Bahía de Cádiz (Fig. 1), dos cultivos de microalgas (*Tetraselmis chuii* y *Nannochloris atomus*) y la adición de concentraciones conocidas de dos bases orgánicas (glicina y L- histidina). Se evaluó la contribución de cada base de manera individual, para ello se realizaron diferentes adiciones de: 50, 100, 250, 500 y 1.000 μM .

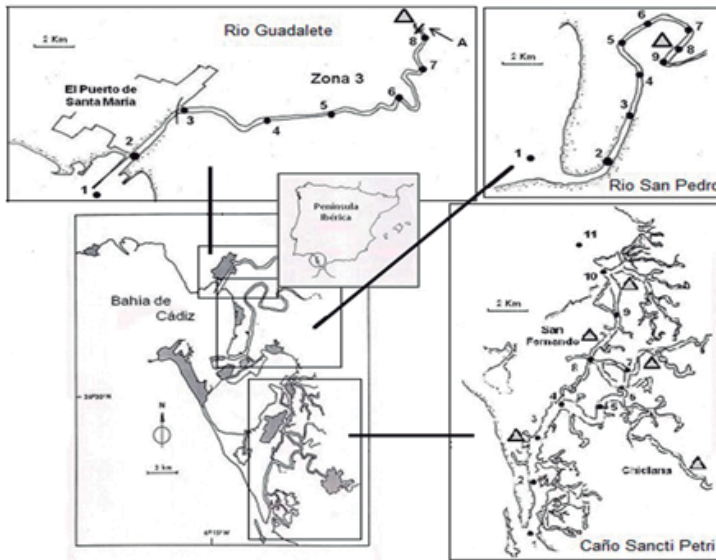


Figura 1.- Localización de las áreas de estudio en el Parque Natural Bahía de Cádiz. Los triángulos que aparecen en la figura corresponden a vertidos de materia orgánica.

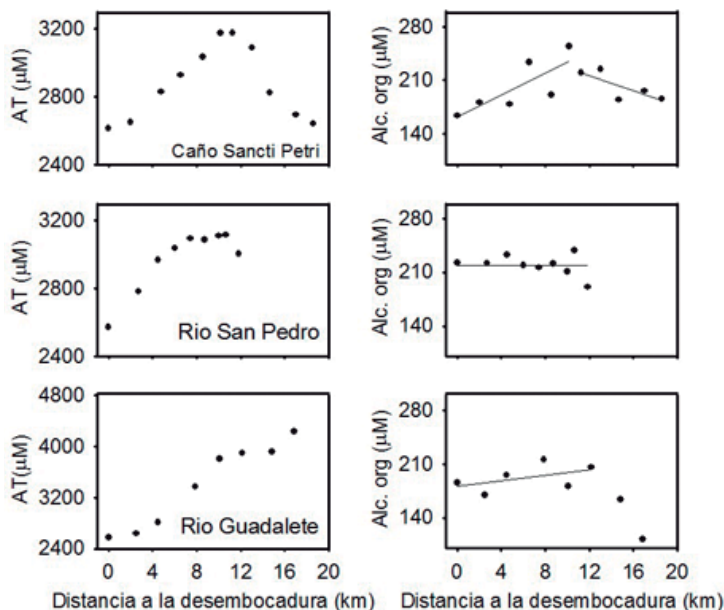
RESULTADOS

En la tabla I se muestran el valor medio y la desviación estándar de la temperatura, salinidad, pH y alcalinidad total en los tres sistemas costeros estudiados del Parque Natural Bahía de Cádiz. El río Guadalete es el sistema que presenta los valores más elevados de AT, así como un mayor intervalo de variación de todas las variables medidas, especialmente la salinidad y AT, con desviaciones estándar de 14,2 y 652 mM, respectivamente. El río San Pedro puede considerarse el sistema más homogéneo en lo que se refiere a la temperatura, salinidad y AT.

Tabla I.- Valores medios y desviación estándar de la temperatura, salinidad, pH y alcalinidad total (AT) en las tres zonas de estudio del Parque Natural Bahía de Cádiz.

Zona de estudio	T (°C)	Salinidad	pH	AT (μM)
Caño Sancti Petri	21,5 \pm 0,9	41,1 \pm 2,1	8,00 \pm 0,03	2.877 \pm 215
Rio San Pedro	24,0 \pm 0,3	41,6 \pm 1,7	7,76 \pm 0,11	2.973 \pm 183
Rio Guadalete	24,4 \pm 1,0	21,3 \pm 14,2	7,90 \pm 0,13	3.403 \pm 652

En las zonas costeras del Parque Natural Bahía de Cádiz se observó que en el Caño Sancti Petri, se produce un aumento tanto de la AT, como de A.Org hasta la estación 6 donde existe un máximo (3.174,1-254,4 μM respectivamente) debido a que es una zona de drenaje. En el rio San Pedro se produce un aumento de la AT mientras que la A.Org es constante a lo largo del río y en el rio Guadalete la AT aumenta a medida que nos adentramos en el río, presentando los valores más elevados de los tres sistemas, igualmente se produce un aumento de la A.Org exceptuando las dos últimas estaciones donde se produce una disminución debido a diluciones (Fig. 2)

**Figura 2.-** Variaciones de la alcalinidad total (μM) y la contribución orgánica a la alcalinidad con la distancia a la desembocadura en las diferentes zonas de estudio: Río San Pedro, Caño Sancti Petri y Río Guadalete.

En cuanto a los cultivos de microalgas la contribución de las bases orgánicas a la alcalinidad depende de la densidad celular y del tipo de microalga.

En el cultivo de *T. chuii* se observó que presenta un valor máximo de AT de 3.539 μM a densidades de 39×10^4 cel mL^{-1} . Sin embargo, para densidades similares de 38×10^6 cel mL^{-1} , el cultivo de *N. atomus* presenta valores de alcalinidad inferiores a 3.334,0 μM , alcanzando un valor máximo de 3.645,0 μM a densidades de $78,4 \times 10^6$ cel mL^{-1} .

La contribución orgánica presentó en ambos cultivos una cierta dependencia lineal con el aumento de la densidad celular, obteniéndose valores de 165,5 a 264,8 μM para densidades entre 10×10^4 a 36×10^4 cel mL^{-1} en *T. chuii* ($r^2 = 0,55$) y de 148,8 a 296,0 μM para densidades entre 18×10^6 a 78×10^6 cel mL^{-1} en *N. atomus* ($r^2 = 0,74$) (Fig. 3).

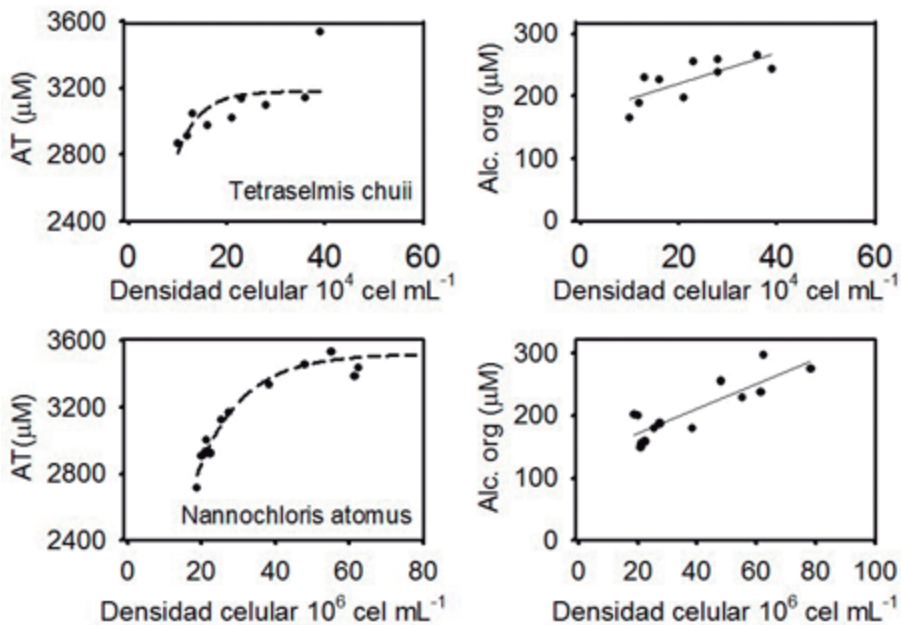


Figura 3.- Variación de la alcalinidad total y alcalinidad debida a la contribución de las bases orgánicas para los cultivos de microalgas *Tetraselmis chuii* y *Nannochloris atomus* en función de la densidad.

Para la adición de concentraciones conocidas de dos bases orgánicas se apreció un aumento lineal tanto de AT como de A.Org a medida que aumenta la concentración de las bases, las contribuciones de las bases orgánicas a la AT es función del pKa. (Fig.4).

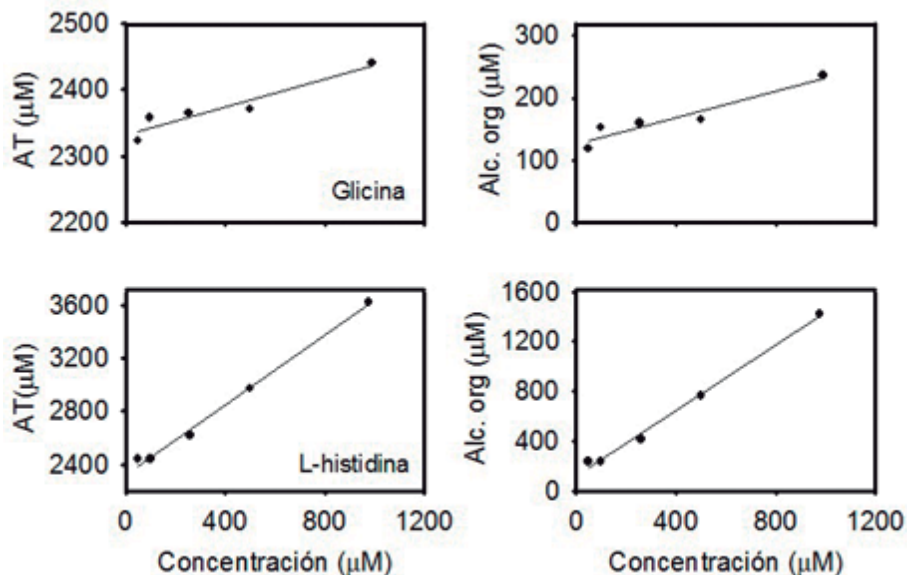


Figura 4.- Variaciones de alcalinidad total y alcalinidad debido a la contribución de las bases orgánicas con la concentración para la Glicina y L-histidina.

DISCUSIÓN

En los tres sistemas estudiados del Parque Natural Bahía de Cádiz la AT se encontró influenciada por la contribución de bases orgánicas, con valores que varían entre 111,5 a 254,4 μM , y con una contribución media por sistema de $219,1 \pm 13,6 \mu\text{M}$ para el Río San Pedro, $201,2 \pm 27,7 \mu\text{M}$ para el caño Sancti Petri y $178,4 \pm 32,1 \mu\text{M}$ para el río Guadalete. Estos valores son superiores a los encontrados en otros sistemas costeros (Tabla II) en los que la contribución varía entre 20 y 190 μM . Únicamente nos encontramos valores superiores a 100 μM y próximos a los encontrados en el Parque Natural Bahía de Cádiz, en la Bahía de San Diego, en el norte del Golfo de California (Hernández-Ayón *et al.*, 2007) y en el estuario del río Satilla (Cai *et al.*, 1998), con contribuciones máximas de 190, 109 y 115 μM , respectivamente.

Tabla II.- Intervalos de variación de la contribución de las bases orgánicas a la alcalinidad total (A.Org) en diferentes sistemas costeros.

Sistema	A.Org (μM)	Referencia
Estuario del río Satilla	20 - 115	Cai <i>et al.</i> (1998)
Norte del Golfo de California	20 - 119	Hernández-Ayón <i>et al.</i> (2007)
Bahía de San Diego	100 - 190	Hernández-Ayón <i>et al.</i> (2007)
Río San Pedro	190-238	Este estudio
Caño Sancti Petri	164-254	Este estudio
Río Guadalete	111-215	Este estudio

La contribución de las bases orgánicas a la AT en el caño de Sancti Petri y en el río Guadalete presentaron un comportamiento similar, con un aumento en las primeras estaciones hasta alcanzar un máximo y una disminución posterior, aunque las causas que lo provocan son muy diferentes. En el caño Sancti Petri el máximo está en 254,4 μM y coincide con los valores máximos de AT y salinidad y con el mínimo de pH. Este hecho, se debe a la proximidad del punto de muestreo de la desembocadura del río Iro, proveniente de la ciudad de Chiclana de la Frontera y cuyas aguas tienen una importante carga de materia orgánica y nutrientes. En el río Guadalete encontramos una dependencia lineal no significativa ($r^2=0,2$) entre la contribución de las bases orgánicas y la distancia a costa, que tiende a aumentar a medida que nos adentramos en el río, y disminuyendo en las últimas dos estaciones debido probablemente a efectos de dilución producidos por el agua dulce que entra desde el represamiento.

En el Río San Pedro existió una contribución constante a lo largo de todo el sistema, con un pequeño aumento con un valor de 238,4 μM , coincidiendo con el punto de vertido de la piscifactoría situada en la parte alta del sistema, que es la que se considera principal fuente de materia orgánica y nutrientes al cauce.

Para los cultivos de microalgas la primera razón que justifica el aumento de AT observado en los cultivos de *T. chuii* y *N. atomus* es consecuencia de la intensificación de la actividad fotosintética a medida que crece la densidad celular. Por otra parte, la determinación de AT mediante valoración potenciométrica se encuentra afectada, fundamentalmente por las concentraciones de CO_3^{2-} y HCO_3^- en el agua de mar, pero también por los equilibrios ácido-base que puedan interaccionar con el ácido añadido. En el caso de los cultivos de microalgas, una parte del aumento de AT se encuentra relacionado con la liberación al medio de bases orgánicas. Se ha encontrado una dependencia lineal significativa ($r^2=0,7$) entre la densidad

celular y la concentración de bases liberadas al medio y se ha observado que, aun no siendo la especie que presenta una mayor tasa de crecimiento, *T. chuii* produce un mayor aumento de la alcalinidad debido a la contribución de las bases orgánicas, obteniendo valores máximos de AOrg de 264,8 μM para densidades de $36,0 \times 10^4$ cel mL^{-1} .

Un análisis comparativo de los resultados obtenidos para ambas microalgas requirió considerar las diferencias de densidades celulares en los cultivos, así como el diferente volumen celular que poseen (Tabla III). La pendiente de las variaciones lineales de AOrg con la densidad de cultivo es una medida directa de la cantidad de bases orgánicas liberada por célula. Como puede observarse, una célula de *T. chuii* libera al medio aproximadamente 120 veces más cantidad de bases orgánicas que una célula de *N. atomus*, aunque la densidad final obtenida para *N. atomus* es del orden de 200 veces la de *T. chuii*. El resultado final es que las contribuciones de las bases orgánicas para ambos cultivos son similares. Un factor importante para entender estas variaciones es el tamaño de cada microalga, ya que *T. chuii* tiene un mayor tamaño celular ($324,8 \mu\text{m}^3$) que *N. atomus* ($7,1 \mu\text{m}^3$). Si se normaliza la contribución de las bases orgánicas por unidad de volumen celular ($\mu\text{mol} \mu\text{m}^{-3}$), resulta que *T. chuii* libera al medio 2,5 veces más bases orgánicas que *N. atomus*.

Tabla III.- Volumen celular y normalización de la contribución de bases orgánicas a AT por célula (A.Org/cel) y por volumen celular (A.Org/V) para las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Nannochloris atomus*.

	<i>T. chuii</i>	<i>N. atomus</i>
A.Org/cel ($\mu\text{mol cel}^{-1}$)	$2,42 \cdot 10^{-7}$	$2,00 \cdot 10^{-9}$
Densidad final (cel mL^{-1})	$36,0 \cdot 10^4$	$78,4 \cdot 10^6$
A.Org final (mM)	265	275
Volumen celular (μm^3)	324,8	7,1
A.Org/V ($\mu\text{mol} \mu\text{m}^{-3}$)	$7,45 \cdot 10^{-10}$	$2,82 \cdot 10^{-10}$

En la adición de las bases orgánicas se estudiaron las bases individualmente a concentraciones de 50, 100, 250, 500 y 1.000 μM . Tanto para la glicina como para la L-histidina, se ha observado que existe un aumento lineal de los valores de AT y A.Org la cantidad añadida de base. El pH inicial de todas las muestras se mantuvo relativamente constante (pH = 8,0), ya que el pH de las soluciones patrones de las bases orgánicas se ajustó también a pH = 8, y el pH del agua de mar de referencia también tiene un valor de pH próximo. A este pH, las especies iónicas de un gran número de bases orgánicas se encuentran en forma iónica

casi en su totalidad (Morel y Hering, 1992), y por tanto los incrementos de AT se debieron a la presencia de bases orgánicas en estado iónicas, es decir con grupos no protonados en el medio (Kim et al., 2006).

Se aprecia que la L-histidina es la base que afecta en mayor medida a los valores de AT, alcanzando contribuciones orgánicas de hasta 1.400 μM a concentraciones de 1.000 μM de HYS. Esto se debe a que este aminoácido presenta una cadena lateral con un grupo funcional imidazol con tiene un pKa de $6,8 \pm 0,1$ y, por tanto, situado entre los dos puntos de equivalencia de la valoración potenciométrica del sistema de carbono inorgánico. Este grupo funcional se protona completamente, mientras que el exceso de la contribución de las bases orgánicas con respecto a la concentración de base añadida se encuentra relacionado con la influencia de los grupos amino y carboxílico.

Para la glicina, la contribución de las bases orgánicas también es lineal, pero alcanza valores máximos de 235 mM. Una posible explicación sobre la distinta contribución de las bases orgánicas sobre los valores de alcalinidad es la presencia tanto del número de grupos funcionales protonables como de sus valores de pKa, por tanto es esperable que aquellas bases orgánicas con pKa comprendidos entre 4,5 y el pH inicial de la muestra afecten de forma significativa a la alcalinidad. Para los aminoácidos, el pK de los grupos amino suelen estar comprendidos entre 9,0 y 9,8, lo que supondría que aproximadamente el 5 % de este grupo se encuentra en estado iónico al pH inicial de las muestras, y por tanto, se protona durante la valoración. El pK de los grupos carboxílicos de los aminoácidos suelen tener valores comprendidos entre 2,2 y 2,7, de forma que sólo el 1 % capta protones hasta alcanzar el segundo punto de equivalencia del sistema de carbono inorgánico ($\text{Ph} = 4,5$). Para una interpretación más rigurosa de los resultados obtenidos, se necesita conocer los valores de pK de estos aminoácidos en el agua de mar, así como su dependencia con la temperatura y salinidad.

CONCLUSIONES

1. La contribución de las bases orgánicas a la AT en los sistemas costeros del Parque Natural Bahía de Cádiz tiene un valor medio próximo a 200 μM y sus valores son relativamente constantes tanto cuando se analizan las variaciones dentro de cada uno de ellos, como cuando se comparan entre sí. En general, se ha detectado un aumento de los valores de estas contribuciones hacia las zonas más internas de estos sistemas, con menor renovación de agua y que reciben materia orgánica de distintas fuentes

(depuradora, red de drenaje de marismas o piscifactorías).

2. En cultivos de microalgas se apreció un aumento de AT durante la fase exponencial de crecimiento que es consecuencia de los procesos fotosintéticos en medios cuyo pH se mantiene constante por inyección de CO_2 . Se ha encontrado un aumento lineal de la contribución de las bases orgánicas con la densidad de los cultivos, llegando a contribuir hasta más de un 10 % del valor de la alcalinidad total. Un conocimiento más extenso de la composición de estas sustancias orgánicas y sus valores de pKa sería de gran interés para realizar una formulación conceptual de AT en medios de cultivo de microalgas.
3. La adición de glicina e L-histidina sobre el agua de mar produce un aumento lineal en los valores de la alcalinidad total. El pK de los grupos funcionales determina el efecto de los distintos aminoácidos sobre la alcalinidad total. De esta forma, las adiciones de L-histidina, con un grupo imidazol ($\text{P}_k = 6,8$), provoca contribuciones sobre la alcalinidad mayores incluso que la propia concentración añadida. Por el contrario, el efecto de la glicina es tan sólo de un 10 % de la concentración añadida, relacionado principalmente con la captación de protones en la fase inicial de la valoración potenciométrica por parte del grupo amino, y en menor medida, por la protonación del grupo carboxílico a pH ácidos.
4. El error medio sobre la medida de la alcalinidad de la contribución de las bases orgánicas varía entre un 5,2 y un 7,4 % en los distintos sistemas naturales y cultivos de microalgas que se han estudiado. Estos errores son significativos sobre las distintas magnitudes que definen el sistema del carbono inorgánico en el agua de mar. Las correcciones a realizar sobre las concentraciones de carbono inorgánico pueden llegar a ser importantes cuando se realizan balances de carbono en fotobiorreactores o a la hora de establecer los flujos de CO_2 entre el agua y la atmósfera.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el proyecto CICYT(CTM2011-27891) y de la Junta de Andalucía (PO7-RNM-03197).

BIBLIOGRAFÍA

- Cai W. J., Wang Y. C., Hodson R. E. 1998. Acid-base properties of dissolved organic matter in the estuarine waters of Georgia, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta* 62: 473 - 483, doi: 10.1016/S0016-7037(97)00363-3.
- Hernández-Ayon J.M., Zirino A., Dickson A.G., Camiro-Vargas T., Valenzuela-Espinoza E. 2007. Estimating the contribution of organic bases from microalgae to the titration alkalinity in coastal seawaters. *Limnol. Oceanogr. Methods* 5: 225-232.
- Kim H-C., Lee K., Wonyong C. 2006. Contribution of dissolved organic matter to seawater measured Alkalinity. *Geophysical Research* 36: L20603.
- Morel F.M.M., Hering J.G. 1992. Principles and Applications of Aquatic Chemistry Wiley.
- Ortega T. 2001, Flujos de carbón inorgánico en sistemas costeros de la Península Ibérica. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz, 387pp.



INFLUENCIA DE BASES ORGÁNICAS SOBRE LA CUANTIFICACIÓN DE LA ALCALINIDAD TOTAL EN AGUA DE MAR DE SISTEMAS DE ELEVADA PRODUCTIVIDAD PRIMARIA

Valiente S., Gurgel H., Ortega T., Forja J.M.
 CACYTMAR. Dpto. Química-Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz, Spain.

INTRODUCCIÓN

En sistemas con una alta productividad, como son las zonas costeras y los cultivos de microalgas, la materia orgánica puede afectar a los valores de Alcalinidad total (AT). Por ello es importante evaluar las posibles fuentes de error introducidas por la presencia de estas sustancias en la cuantificación de AT con el fin de realizar las correcciones adecuadas a los valores de AT con objeto de obtener una cuantificación más precisa del carbono inorgánico disuelto (CID) en estos medios.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la cuantificación de AT se realizaron valoraciones potenciométricas. Esta se cuantificó a partir del segundo punto de equivalencia mediante la aplicación de una función de Gran a la parte ácida de la curva de valoración. El algoritmo matemático de cálculo contempla la influencia de los principales equilibrios ácido-base sobre el valor de la concentración de carbono inorgánico (Ortega, 2001). La contribución de las bases orgánicas sobre el valor de AT se ha denominado "alcalinidad orgánica" (A.Org) y se obtiene como diferencia entre AT y A_t , donde la alcalinidad total corregida (A_t) se calculó a partir de los valores de CID y pH inicial de las muestras. (Hernández-Ayon et al., 2007)

SISTEMAS DE ESTUDIO

1. Zonas costeras del Parque Natural Bahía de Cádiz.



3. Adición de concentraciones conocidas de dos bases orgánicas.

» Glicina
 » L-histidina

Se evaluó la contribución de cada base de manera individual, para ello se realizaron diferentes adiciones de: 50, 100, 250, 500, y 1000 μM .



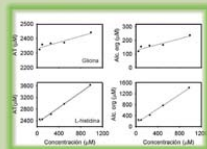
2. Cultivos de microalgas

- » *Tetraselmis chuii*
- » *Nannochloris atomus*

3. Adicionaron concentraciones conocidas de dos bases orgánicas.

Se aprecia un aumento lineal tanto de AT como de A.Org a medida que aumenta la concentración de las bases.

Las contribución de las bases orgánicas a la AT es función del pKa



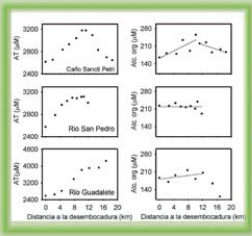
RESULTADO Y DISCUSIÓN

1. Zonas costeras del Parque Natural Bahía de Cádiz

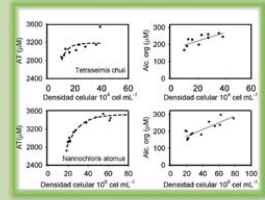
En el caño Sancti Petri, se produce un aumento tanto de la AT, como de A.Org hasta la estación 6 donde existe un máximo (3174,1-254,4 μM respectivamente) debido a que es una zona de drenaje.

En el río San Pedro se produce un aumento de la AT mientras que la A.Org es constante a lo largo del río.

En río Guadalete la AT aumenta a medida que nos adentramos en el río, presentando los valores más elevados de los tres sistemas, igualmente se produce un aumento de la A.Org exceptuando las dos últimas estaciones donde se produce una disminución debido a diluciones.



2. Cultivos de microalgas



En el cultivo de microalgas la contribución de las bases orgánicas a la alcalinidad depende de la densidad celular y del tipo de microalga

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el proyecto CICYT (CTM2011-27891) y de la Junta de Andalucía (PO7-RNM-03197)

BIBLIOGRAFÍA

Hernández-Ayon et al., 2007. Limnol. Oceanogr. Methods, 5: 225-232.
 Ortega, T., 2001. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz, 387pp.

Influencia de las características de las pozas y de procesos oceanográficos de mesoescala en la ictiofauna residente de la zona intermareal rocosa (Golfo de Cádiz)

Compairé¹ J.C., Casademont¹ P., Gómez-Enri² J., Cabrera¹ R., Soriguer¹ M.C.

¹Dpto. Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Campus Río San Pedro s/n, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

²Dpto. Física Aplicada, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Campus Río San Pedro s/n, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

jesus.canocompaire@uca.es

RESUMEN

Las especies ícticas residentes del intermareal se distribuyen a lo largo de un gradiente latitudinal, siendo su tolerancia térmica la que marca los límites de su distribución geográfica. El número de individuos que incrementan la abundancia de la población, reclutas, procedentes de la reproducción anterior, es otro de los aspectos destacables de su dinámica poblacional y depende del momento del ciclo de vida en el que se produzca la reproducción, así como de posibles fenómenos de migración. Aunque tanto la temperatura en la superficie del agua como las corrientes, pueden influir en ambos fenómenos, es la temperatura quien condiciona la temporalización de la reproducción mientras que las corrientes juegan un papel fundamental en la colonización y asentamiento en nuevos hábitats. El análisis de la composición de la ictiofauna intermareal en la plataforma rocosa del Golfo de Cádiz ha tenido lugar en 3 zonas, estudiándose su distribución en relación con las la temperatura superficial del agua y la corriente superficial del mar. En Torregorda se ha observado un descenso en la diversidad de especies con el aumento de la temperatura superficial en las 2 campañas realizadas (2003-07 y 2008-11). En El Chato y Caños de Meca se establece la misma relación pero solo

en la segunda campaña. En Caños de Meca la puesta de las especies presenta una segregación temporal a lo largo del año, capturándose los reclutas entre 2 y 4 meses después de la reproducción. La abundancia relativa anual de *G. cobitis*, *P. sanguinolentus* y *T. tripteronotus* varía de forma notable a lo largo de los 4 años de muestreo. Las puestas de *G. buccichi* y *P. sanguinolentus* están solapadas en el tiempo, por lo que al establecerse relaciones de competencia durante la reproducción, la abundancia anual de una puede verse comprometida por la de otra. Respecto a la relación entre el momento de aparición de los reclutas y la corriente, la abundancia relativa anual de *G. cobitis* y *T. tripteronotus* está relacionada con la corriente superficial geostrofica que hay un mes después de la puesta. Así podemos afirmar que el uso de nuevas tecnologías como los sensores a bordo de satélites nos pueden permitir añadir nuevas variables para tratar de establecer los parámetros que condicionan la distribución de las especies ícticas en la zona intermareal.

PALABRAS CLAVE

Ictiofauna residente, intermareal rocoso, nivel del mar, variaciones estacionales, variaciones interanuales.

INTRODUCCIÓN

El reclutamiento de la mayoría de especies de la zona intermareal tiene una fuerte componente estacional (Grossman, 1982; Beckley, 1985; Mahon & Mahon, 1994; Willis & Roberts, 1996; Griffiths, 2003). También diversos trabajos en zonas templadas han relacionado parámetros oceanográficos con la variación en el reclutamiento de una amplia variedad de invertebrados y peces (Morgan *et al.*, 2000; Bjorkstedt *et al.*, 2002; Shanks & Eckert 2005), manifestando que los procesos oceanográficos que ocurren a escala regional pueden influir en la estructura y dinámica poblacional a escala local (Ritter, 2009). La temperatura condiciona la temporalización de la reproducción mientras que las corrientes juegan un papel fundamental en la colonización y asentamiento en nuevos hábitats.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos mensuales, coincidiendo con la bajamar viva diurna, desde 2008 a 2011 en las pozas de tres zonas de la costa de Cádiz: Caños de Meca (CM), El Chato (CH) y Torregorda (T). Cuando se consideró necesario se utilizó la información procedente de muestreos anteriores (2003-2007) realizados en CH y T.

Para cuantificar la diversidad se ha utilizado el índice de Shannon-Wiener (H'), que responde a la expresión:

$$1) \quad H' = \sum_{i=1}^S -p_i * \log_2 (p_i)$$

donde p_i es la proporción de la especie i en la muestra. Además se definió el estadístico W , que representa la diferencia de área en las curvas de comparación de abundancia y biomasa, definido como:

$$2) \quad W = \sum_{i=1}^S \frac{B_i - A_i}{[50(S - 1)]}$$

donde S es el número total de especies, B_i el porcentaje de dominancia de especies desde la biomasa más alta a la más baja y A_i el porcentaje de dominancia de las especies desde las más abundantes a las menos.

Para estudiar las posibles relaciones entre parámetros meteorológicos y oceanográficos con la estructura de la comunidad de peces se utilizó la información procedente de la Asociación Española de Meteorología y de satélites radiométricos, que proporciona datos de la temperatura superficial del agua (SST), y satélites altimétricos que proporcionan datos de variación del nivel del mar (SLA) y permiten calcular la corriente superficial geostrofica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 3 zonas presentaron diferencias desde el punto de vista del tamaño y fisiografía de las pozas. Torregorda se asoció con las pozas con erizos y de mayor profundidad, mientras que Caños de Meca con las pozas de roca con cantos y algas, más someras y de mayor superficie (Fig. 1).

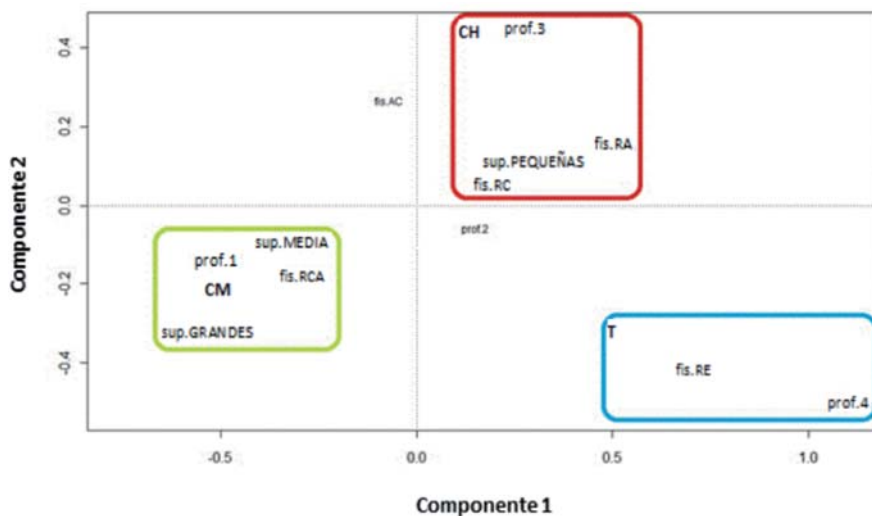


Figura 1.- Análisis de Componentes Múltiple de las categorías de superficie, profundidad y fisiografía en las 3 zonas. Superficie (m²): PEQUEÑAS < 10, MEDIANAS entre 10 y 30, GRANDES > 30. Profundidad (m): 1 menores a 0.1, 2 entre 0.1 y 0.2, 3 entre 0.2 y 0.3, 4 mayores a 0.3. Fisiografías (pozas): AC = de arena con cantos, RA = roca con algas, RC = roca con cantos, RE = roca con erizos, RCA = roca con cantos y presencia de algas.

La tabla I muestra, para cada zona, el número medio de ejemplares capturados por poza, número medio de ejemplares recolectados por m² de poza muestreada, número medio de especies capturadas por poza muestreada, el mínimo y máximo número de especies recolectadas en una poza y la relación entre el número medio de especies y la superficie de la poza (m²).

Tabla I.- Superficie de la plataforma intermareal rocosa (m²), n° de meses de muestreo, n° de pozas muestreadas, superficie muestreada (m²) y porcentaje de superficie muestreada para cada zona en el periodo 2008-2011. Entre paréntesis los datos referentes al total de los muestreos (periodo 2003-2011).

Lugar	T	CH	CM
n° medio ejemplares/poza	18.95 (15.84)	37.51 (28.06)	43.18
n° medio ejemplares/m ² poza	2.21 (3.15)	4.62 (5.30)	2.83
n° medio especies/poza	4.30 (4.15)	6.09 (5.20)	6.60
Mín-Máx n°especies/poza	1 – 9	1 – 11	2 – 14
n° medio ejemplares/m ² poza	0.51 (0.87)	0.75 (0.98)	0.43

La diversidad mensual en CH y CM disminuyó en los meses más cálidos (Fig. 2), siendo precisamente en estos cuando la abundancia de Gobiidae, principal familia de la zona, es mayor, produciéndose el reclutamiento de las 2 principales especies, *Gobius paganellus* y *G. bucchichi*. Además en CM la relación queda mejor explicada cuando se incluye la influencia de la intensidad de las rachas de viento.

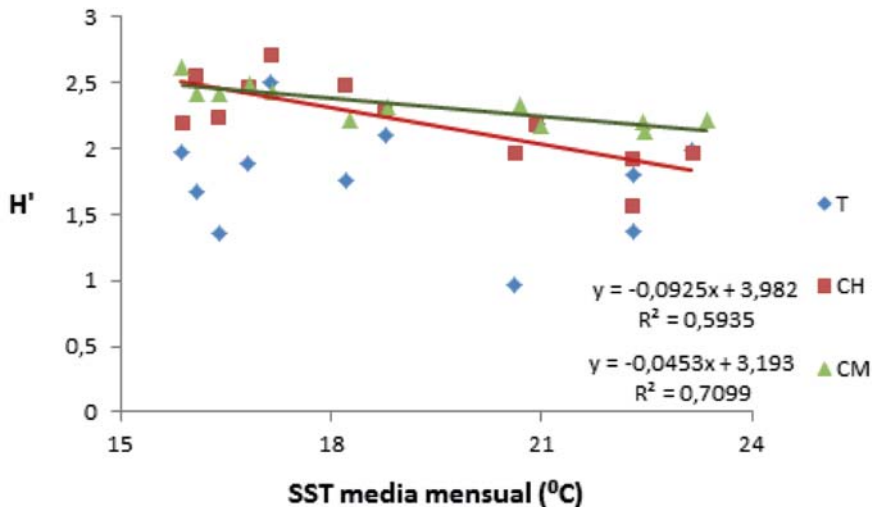


Figura 2.- Relación de los valores medios mensuales de diversidad y la temperatura media mensual superficial del océano en las 3 zonas de muestreo.

La diversidad disminuyó a medida que aumentó la temperatura, tanto del aire como de la superficie del agua para ambas campañas en T y tan solo para la segunda en CH y CM (Fig. 3). El descenso anual del número de especies por poza a lo largo de los últimos 4 años que se observó tanto en CH como especialmente en T, puede explicarse por la suma del efecto del aumento de temperatura y la disminución paulatina de la superficie de las pozas muestreadas.

En nuestro estudio, excepto para *Salarias pavo*, existió un claro patrón estacional y el análisis de la abundancia de reclutas coincidió, desplazado, con el ciclo de desarrollo gonadal. En *Gobius bucchichi*, *Gobius cobitis*, *Lepadogaster lepadogaster*, *Parablennius sanguinolentus*, *Tripterygion tripteronotus* y *Zebrus zebrus*, los ejemplares de las menores clases de talla registradas se capturaron entre 2 y 4 meses después del máximo valor del IGS (Fig. 4). Esto coincide con lo ya descrito por diversos autores que relacionan el momento del reclutamiento con el periodo de puesta (Washington *et al.*, 1984; Marliave, 1986; Stepien *et al.*, 1991) y destacan que el tiempo de permanencia de los alevines en el plancton antes de acudir hacia las zonas de asentamiento es de 2 – 3 meses para Blennidae (Stephens *et al.*, 1970) y 3 – 4 meses para Gobiidae (Grossman 1979).

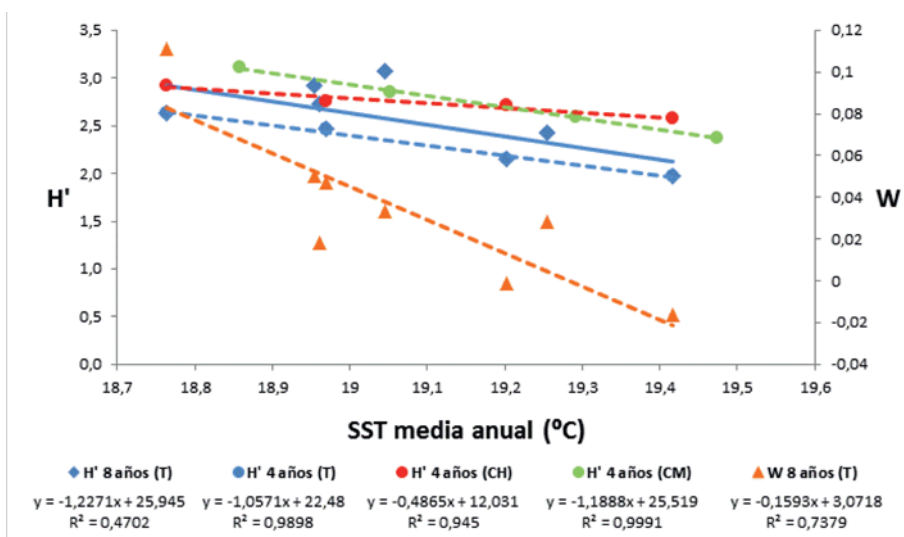


Figura 3.- Relación de los valores medios anuales de diversidad y la temperatura media mensual superficial del océano en las 3 zonas de muestreo.

En CM el ciclo reproductivo de *P. sanguinolentus* y *G. bucchichi* se solapó temporalmente (Fig. 4). Dado que se trata de especies con ciclos de vida cortos, su abundancia depende en gran medida del reclutamiento anual y de la reproducción del año anterior, de modo que esta

debe estar determinada por los mismos factores oceanográficos. Sin embargo, su abundancia relativa anual (CPUE) es inversa, es decir, cuando una aumenta la otra disminuye, por lo que esta puede estar condicionada por la existencia de relaciones de competencia entre ellas.

En CM la abundancia relativa anual de *G. cobitis* y *T. tripteronotus* varió de forma notable a lo largo del periodo 2008-11. La CPUE anual de ambas especies disminuyó significativamente en 2010 respecto al año anterior, el patrón encontrado hizo responsable de este descenso al sentido de la corriente superficial geostrofica, hacia mar abierto u otras zonas, un mes después de la puesta. Para *G. cobitis* en el mes de abril (Fig. 4) y para *T. tripteronotus* en agosto (Fig. 4) de 2009. De modo que en los años en los que la dirección y sentido de la corriente fue hacia costa aumenta la CPUE, disminuyendo cuando es hacia mar abierto.

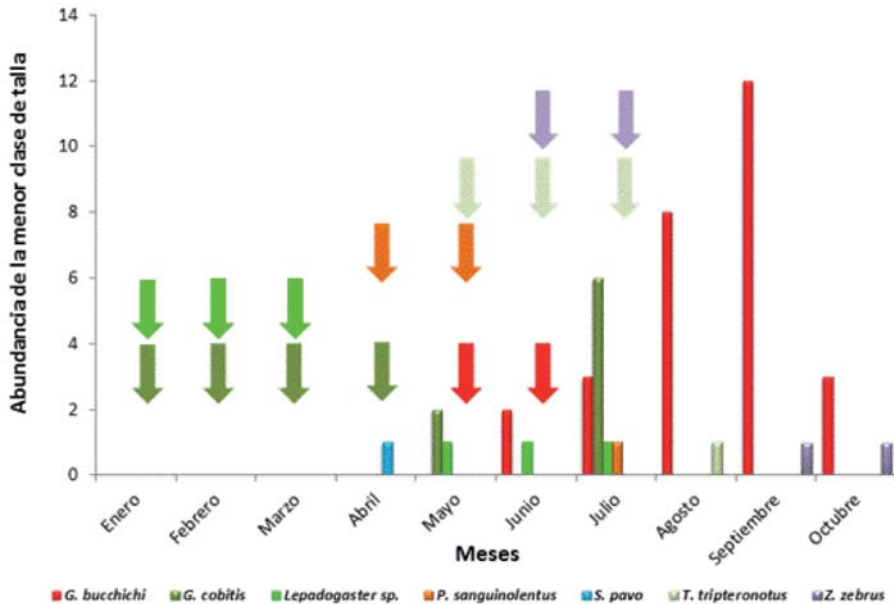


Figura 4.- Variación mensual de la abundancia de la menor clase de talla capturada para cada especie en Caños de Meca (Las flechas indican los meses del año donde se encuentran los mayores valores del IGS compatibles con la puesta para cada especie)

CONCLUSIONES

Las tres zonas analizadas presentaron diferencias desde el punto de vista del tamaño y fisiografía de las pozas. Torregorda se asoció con las pozas con erizos y de mayor profundidad, mientras que Caños de Meca con las pozas de roca con cantos y algas, más someras y de mayor superficie.

La diversidad en El Chato y Caños de Meca disminuyó en los meses más cálidos, siendo precisamente en estos meses cuando la abundancia de Gobiidae fue mayor.

El descenso del número de especies por poza a lo largo de los últimos 4 años que se observó tanto en El Chato como especialmente en Torregorda, puede explicarse por la suma del efecto del aumento de temperatura y la disminución paulatina de la superficie de las pozas muestreadas.

La puesta de las especies analizadas en el presente estudio presentó una segregación temporal. Existiendo, excepto para *S. pavo*, un claro patrón estacional en la abundancia de las menores clases de talla registradas, capturándose los reclutas entre 2 y 4 meses después del máximo valor del IGS.

En Caños de Meca la CPUE anual de *P. sanguinolentus* y *G. buccichichi* fue inversa, ya que cuando una aumentó la otra disminuyó, lo que parece indicar que el aumento o reducción en la abundancia relativa anual de ambas especies puede estar determinada por la existencia de relaciones de competencia entre ellas.

La abundancia relativa anual de *G. cobitis* y *T. tripteronotus* del año estuvo relacionada con el sentido de la corriente superficial geostrofica que hay un mes después de la puesta del año anterior, aumentando en los años en los que la dirección y sentido de la corriente es hacia costa y disminuyendo cuando es hacia mar abierto.

BIBLIOGRAFÍA

- Beckley L.E. 1985. Tide-pool fishes: recolonization after experimental elimination. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 85: 287-295.
- Bjorkstedt E.P., Rosenfeld L.K., Grantham B.A., Shkedy Y., Roughgarden J. 2002.

- Distributions of larval rockfishes *Sebastes* spp. across nearshore fronts in a coastal upwelling region. *Marine Ecology Progress Series* 242: 215-228.
- Griffiths S.P., West R.J., Davis A.R. 2003. Effects of intertidal elevation on the rockpool ichthyofaunas of temperate Australia. *Environmental Biology of Fishes* 68: 197-204.
- Grossman G.D. 1979. Demographic characteristics of an intertidal bay goby (*Lepidogobius lepidus*). *Environmental Biology of Fishes* 4: 207-218.
- Grossman G D. 1982. Dynamics and organization of a rocky intertidal fish assemblage: the persistence and resilience of taxocene structure. *American Naturalist* 119: 611-637.
- Mahon R., Mahon S.D. 1994. Structure and resilience of a tidepool fish assemblage at Barbados. *Environmental Biology of Fishes* 41: 171-190.
- Marliave J.B. 1986. Lack of planktonic dispersal of rocky intertidal fish larvae. *Transactions of the American Fisheries Society* 115: 149-154.
- Morgan L.E., Wing S.R., Botsford L.W., Lundquist C.J., Diehl J.M. 2000. Spatial variability in red sea urchin (*Strongylocentrotus franciscanus*) recruitment in northern California. *Fisheries Oceanography* 9: 83-98.
- Ritter A.F. 2009. Regional variation in oceanographic conditions influences intertidal fish assemblage structure. *Limnology and Oceanography* 54: 1559-1573.
- Shanks A.L., Eckert G.J. 2005. Population persistence of California Current fishes and benthic crustaceans: A marine drift paradox. *Ecological Monographs* 75: 505-524.
- Stephens Jr. J.S., Johnson R.K., Key G.S., McCosker J.E. 1970. The comparative ecology of three sympatric species of California blennies of the genus *Hypsoblennius* Gill (Teleostomi, Blenniidae). *Ecological Monographs* 40: 213-233.
- Stepien C.A., Phillips H., Adler J.A., Mangold P.J. 1991. Biogeographic relationships of a rocky intertidal fish assemblage in an area of cold water upwelling off Baja California, Mexico. *Pacific Science* 45: 63-71.
- Washington B B., Moser H.G., Laroche W.A., Richards W.J. 1984. Scorpaeniformes: development. En: *Ontogeny and Systematics of Fishes*. Ahlstrom Symposium. Special Publication, pp. 405-428. Boston, EE.UU..
- Willis T.J., Roberts C.D. 1996. Recolonisation and recruitment of fishes to intertidal rockpools at Wellington, New Zealand. *Environmental Biology of Fishes* 47: 329-343.

INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS POZAS Y DE PROCESOS OCEANOGRÁFICOS DE MESOESCALA EN LA ICTIOFAUNA RESIDENTE DE LA ZONA INTERMAREAL ROCOSA (GOLFO DE CÁDIZ)

COMPARTE EL TUO TRABAJO EN EL GOBIERNO Y EN EL COMERCIO Y EN EL SECTOR PRIVADO
 1970 1980 1990 2000 2010 2020
 INSTITUTO ESPAÑOL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) Y DEL GOBIERNO DE ESPAÑA Y DEL INSTITUTO FRANCÉS DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (IFREMER)

MATERIAL Y MÉTODOS

INTRODUCCIÓN

El reclutamiento de la mayoría de especies de la zona intermareal tiene una fuerte componente estacional (Grossman, 1982; Beckley, 1985; Mahon & Mahon, 1994; Willis & Roberts, 1996; Griffiths, 2003). También diversos trabajos en zonas templadas han relacionado parámetros oceanográficos con la variación en el reclutamiento de una amplia variedad de invertebrados y peces (Morgan et al., 2000; Bjorkstet et al., 2002; Shanks & Eckert 2005), manifestando que los procesos oceanográficos que ocurren a escala regional pueden influir en la estructura y dinámica poblacional a escala local (Ritter, 2009). La temperatura condiciona la temporalización de la reproducción mientras que las corrientes juegan un papel fundamental en la colonización y asentamiento en nuevos hábitats.



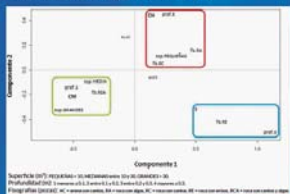
Se han realizado muestreos mensuales, coincidiendo con la bajamar viva diurna, desde 2008 a 2011 en las pozas de tres zonas de la costa de Cádiz: Caños de Meca (CM), El Chato (CH) y Torreorda (T). Cuando se ha considerado necesario se ha utilizado la información procedente de muestreos anteriores (2003-2007) realizados en CH y T.

Para cuantificar la diversidad se ha utilizado el índice de Shannon-Wiener, que responde a la expresión $H' = -\sum p_i \log p_i$ (o es la proporción de la especie i en la muestra. Además se ha definido el estadístico W, que representa la diferencia de área en las curvas de comparación de abundancia y biomasa, definido como $W = \sum (B_i - A_i) / (50 * (5 - 1))$ (S es el número total de especies, B, el porcentaje de dominancia de especies desde la biomasa más alta a la más baja y A el porcentaje de dominancia de los especies desde las más abundantes a las menos).

Para estudiar las posibles relaciones entre parámetros meteorológicos y oceanográficos con la estructura de la comunidad de peces se ha utilizado la información procedente de la Asociación Española de Meteorología y de satélites radiométricos, que nos proporciona datos de la temperatura superficial del agua (SST), y satélites altimétricos que nos proporcionan datos de variación del nivel del mar (SLA) y nos permiten calcular la corriente superficial geostrofica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 3 zonas presentan diferencias desde el punto de vista del tamaño y fisiografía de las pozas. Torreorda se asocia con las pozas con elizos y de mayor profundidad, mientras que Caños de Meca con las pozas de roca con cantos y algas, más someras y de mayor superficie (Fig. 1).



La Tabla 1 muestra, para cada zona, el número medio de ejemplares capturados por poza, número medio de ejemplares recolectados por m² de poza muestreada, número medio de especies capturadas por poza muestreada, el mínimo y máximo número de especies recolectadas en una poza y la relación entre el número medio de especies y la superficie de la poza (m²).

Tabla 1. Entre paréntesis los valores correspondientes cuando se incluyen los muestreos de 2003 a 2007.

Zona	nº medio ejemplares/poza	nº medio ejemplares/m ² poza	nº medio especies/poza	Min - Máx nº especies/poza	nº medio especies/m ² poza
T	38.95 (35.84)	3.21 (3.35)	4.31 (4.55)	1 - 9	0.51 (0.47)
CH	37.51 (28.26)	4.42 (3.20)	4.09 (3.20)	1 - 11	0.75 (0.78)
CM	40.18	2.03	0.46	2 - 18	0.12 (0.12)

DIVERSIDAD

Mensualmente la diversidad en CH y CM disminuye en los meses más cálidos (Fig. 2), siendo precisamente en éstos cuando la abundancia de Gobiidae, principal familia de la zona, es mayor, produciéndose el reclutamiento de las 2 principales especies, *Gobius pagannellus* y *G. buccichichi*. Además en CM la influencia de la intensidad de las rachas de viento,

anualmente la diversidad disminuye a medida que aumenta la temperatura, tanto del aire como de la superficie del agua para ambas campañas en T y tan solo para la segunda en CH y CM (Fig. 3).

El descenso del número de especies por poza a lo largo de los últimos 4 años que se observa tanto en CH como especialmente en T, puede explicarse por la suma del efecto del aumento de temperatura y la disminución paulatina de la superficie de las pozas muestreadas.

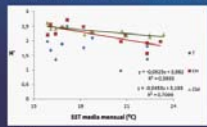


Figura 2. Diversidad mensual (H') en las zonas de muestreo de Torreorda (CH) y Caños de Meca (CM) desde 2008 hasta 2011.

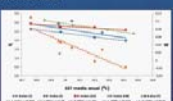


Figura 3. Diversidad mensual (H') en las zonas de muestreo de Torreorda (CH) y Caños de Meca (CM) en función de la temperatura superficial del agua (SST) y la temperatura del aire (T).

En nuestro estudio, excepto para *Salaria pavo*, existe un claro patrón estacional y el análisis de la abundancia de reclutas coincide, desplazado, con el ciclo de desarrollo gonadal. En *Gobius buccichichi*, *Gobius cobitis*, *Lepidogaster lepidogaster*, *Parablennius sanguinolentus*, *Tripterygion tripteronotus* y *Zelus zelurus*, los ejemplares de las menores clases de talla registradas se capturan entre 2 y 4 meses después del máximo valor del ICS (Fig. 4). Esto coincide con lo ya descrito por diversos autores que relacionan el momento del reclutamiento con el periodo de permanencia de los alveinos en el plancton antes de acudir hacia las zonas de asentamiento en de 2 - 3 meses para *Bleniidae* (Stephens et al., 1970) y 3 - 4 meses para *Gobiidae* (Grossman 1979).



Figura 4. Abundancia relativa anual (CPUE) de las especies de Gobiidae en las zonas de muestreo de Torreorda (T), Caños de Meca (CH) y Caños de Meca (CM) desde 2008 hasta 2011.

En CM el ciclo reproductivo de *Parablennius sanguinolentus* y *Gobius buccichichi* se solapa temporalmente (Fig. 4). Dado que se trata de especies con ciclos de vida cortos, su abundancia depende en gran medida del reclutamiento anual y de la reproducción del año anterior, de modo que esta debe estar determinada por los mismos factores oceanográficos. Sin embargo, su abundancia relativa anual (CPUE) es inversa, es decir, cuando una aumenta la otra disminuye, por lo que esta puede estar condicionada por la existencia de relaciones de competencia entre ellas.

En CM la abundancia relativa anual de *Gobius cobitis* y *Tripterygion tripteronotus* varía de forma notable a lo largo del periodo 2008-11. La CPUE anual de ambas especies disminuye significativamente en 2010 respecto al año anterior, el patrón encontrado hace responsable de este descenso al sentido de la corriente superficial geostrofica, hacia mar abierto a otras zonas, un mes después de la puesta. Para *G. cobitis* en el mes de abril (Fig. 5) y para *T. tripteronotus* en agosto (Fig. 6) de 2009. De modo que en los años en los que la dirección y sentido de la corriente es hacia costa aumenta la CPUE, disminuyendo cuando es hacia mar abierto.

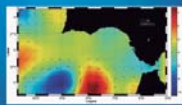


Figura 5. Dirección y sentido de la corriente superficial geostrofica en Caños de Meca (CM) en abril de 2009.

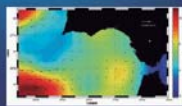


Figura 6. Dirección y sentido de la corriente superficial geostrofica en Caños de Meca (CM) en agosto de 2009.

BIBLIOGRAFÍA

Beckley, S. (1985). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 54, 207-220.
 Griffiths, P., Shaw, A., & Jones, K. (2003). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 72, 207-220.
 Mahon, J. B. (1994). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 63, 207-220.
 Morgan, S. J., & Eckert, J. A. (2000). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 69, 207-220.
 Shanks, A. J., & Eckert, J. A. (2005). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 74, 207-220.
 Stephens, J. C., & Grossman, R. D. (1970). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 39, 207-220.
 Willis, T. J., & Roberts, R. J. (1996). The recruitment of the intertidal gobiid fish *Gobius cobitis* (Pisces: Gobiidae) in a rocky pool. *Journal of Animal Ecology*, 65, 207-220.



La liseta (*Chelon labrosus*): crecimiento a partir de proteína vegetal en estadios juveniles

de las Heras¹ V., Martos-Sitcha^{1,2} J.A., Mata¹ J.A., Dias³ J., Conceição³ L.E.C., Martínez-Rodríguez¹ G., Yúfera¹ M.

¹Dpto. Biología Marina y Acuicultura, Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC), 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

²Dpto. Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

³SPAROS Lda, Faro, Portugal.

veronica.delasheras@icman.csic.es

RESUMEN

El incremento esperado en la producción masiva de peces procedentes de la acuicultura actual hace patente la necesidad de avanzar en el cultivo de especies cuya alimentación sea mayoritariamente a base de harinas vegetales. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la influencia de piensos de diferente composición sobre el crecimiento de juveniles de liseta, *Chelon labrosus* (Risso, 1827). Juveniles de liseta ($n = 540$, 101 días post-eclosión; $0,410 \pm 0,024$ g; $3,226 \pm 0,058$ cm) fueron sometidos en triplicado a 3 piensos (ración del 7 % en peso) con diferente composición: i) 50 % vegetal y 50 % proteína animal (control), ii) 100 % proteína animal, y iii) 100 % vegetal. Los individuos fueron muestreados los días 0, 20, 40 y 60 desde inicio del experimento, realizando análisis biométricos de peso y longitud total ($n = 8$ por tanque, 24 por grupo). Los animales mostraron un crecimiento notorio con los tres piensos de más de un 130 % para la longitud y más de un 250 % para el peso a tiempo final. Los resultados muestran como los juveniles de la especie presentan un crecimiento estadísticamente similar tanto en peso como en talla para cada uno de los diferentes piensos testados en este experimento, si bien se observó una tendencia a un menor crecimiento cuando se alimentaron con el pienso 100 % vegetal. Además,

los datos muestran que el tipo de pienso suministrado a los individuos influyó en diferentes índices de conversión del alimento. Estos resultados muestran que esta especie presenta buenos rendimientos con una alimentación basada en harina vegetal y que es una excelente opción como futura especie que contribuya a mantener la sostenibilidad de la producción acuícola.

PALABRAS CLAVE

Alimentación, *Chelon labrosus*, crecimiento, harinas de pescado, harinas vegetales.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad creciente en las últimas décadas, lo que ha supuesto un aumento de la demanda de alimentos preparados. Algunos de los ingredientes principales usados en la fabricación de piensos provienen de las pesquerías, encontrándose en su mayoría explotadas o sobreexplotadas, lo que restringe el uso actual y futuro de las harinas y aceites de pescado en alimentos acuícolas (Tacon and Metian, 2008). La alimentación es esencial en la producción de peces, pudiendo llegar a representar más de un 50 % de los costes de producción. Es por ello que cada vez se hace más necesario optimizar los procesos de manufacturación y producción de piensos con una composición menos dependiente de las harinas y aceites de pescado para producir peces de forma más eficiente (Watabane, 2002). La tendencia actual es conseguir sustituir estos ingredientes en los alimentos acuícolas, de forma parcial o total, por diferentes proteínas y aceites de origen vegetal con el fin de reducir los costes de producción (Turchini *et al.*, 2009; Hardy, 2010). Sin embargo, no sólo se hace necesario reemplazar la formulación en la composición de los piensos, sino que además se deben encontrar especies que sean capaces de incorporar dichos alimentos, transformando ingredientes vegetales en proteína animal de una forma eficiente.

La liseta (*Chelon labrosus*) es una especie de mugílido que aparece de manera natural en las zonas estuáricas y marismas de la región suratlántica de la Península Ibérica. Se ha demostrado que *C. labrosus* puede ser una especie fácilmente cultivable (Boglione *et al.*, 1992; Ben Kemish *et al.*, 2006; 2012; Zouiten *et al.*, 2008), y además, dadas sus características omnívoras (Drake y Arias, 1984) presenta un buen potencial para disminuir el alto consumo de proteína animal, así como para diversificar las actuales especies cultivadas.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el crecimiento en juveniles de liseta, *C. labrosus* (Risso, 1827), en relación a la sustitución parcial o total de harinas de origen animal por otras de procedencia vegetal.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se llevó a cabo a partir de huevos obtenidos de puestas naturales de un lote de reproductores mantenidos en las instalaciones del área de acuicultura del IES Els Alfacs que fueron transferidos a las instalaciones del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC) (Puerto Real, Cádiz), donde eclosionaron y se cultivaron las larvas hasta la fase de juvenil.

Los juveniles de liseta de 101 días post-eclosión, fueron distribuidos por triplicado en tanques independientes y alimentados con tres piensos de diferente composición: A) 50 % vegetal y 50 % proteína animal (control), B) 100 % proteína animal, y C) 100 % vegetal. Se utilizó un ciclo de iluminación de 12 h luz : 12 h oscuridad, en condiciones controladas de temperatura (18,6 °C) y salinidad (30 ppt), y circulación de agua en flujo continuo. El experimento se inició con animales de $0,410 \pm 0,024$ g de peso y $3,226 \pm 0,058$ cm de longitud, y se muestrearon los días 0, 20, 40 y 60 post-transferencia, obteniendo datos de peso y longitud total ($n = 8$ por triplicado, 24 por grupo).

ANÁLISIS DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

Con los datos de peso fresco y longitud total obtenidos a día 60, se realizó el análisis de diferentes índices biométricos:

- Tasa específica de crecimiento (SGR, %·día⁻¹)= $[(LnPf_f - LnPf_i)/días]*100$
- Factor de condición (K)= $(Pf/Lt^3)*100$
- Ganancia en peso (WG, g)= $Pf_f - Pf_i$
- Factor de conversión del alimento (FCR)= $Alimento\ aportado / Incremento\ biomasa$
- Eficiencia alimentaria (FER, %)= $(Incremento\ biomasa/Alimento\ aportado)*100$
- Tasa específica de alimentación (SFR, %)= $[(Alimento/Biomasa\ media)/días]*100$

Donde Pf_f = peso fresco (g), Pf_i = peso fresco inicial (g), Pf_f = peso fresco final (g), y Lt = longitud total (cm).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La homogeneidad de las diferencias entre los tratamientos fue puesta a prueba por el test de Levene, y el análisis de la varianza mediante ANOVA de una vía seguido del Test de Tukey utilizando el software GraphPad PRISM (versión 5.0b). El nivel mínimo de significación fue de 95 % ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Los resultados relativos a longitud total (Fig. 1A) y peso húmedo (Fig. 1B) de los individuos de *C. labrosus* muestran la existencia de un crecimiento similar en ambos parámetros en animales alimentados con pienso vegetal y pienso animal en los primeros 20 días del experimento, mientras que los animales alimentados con el pienso control muestran un crecimiento no significativamente inferior con respecto a los otros dos piensos experimentales. Por su parte, a partir del día 40 de experimento (animales desde 121 días) comienza a producirse una tendencia hacia un menor crecimiento tanto en peso como en longitud (Fig. 1A y 1B) en los ejemplares alimentados con pienso vegetal, no siendo estas diferencias significativamente diferentes al final de la experiencia.

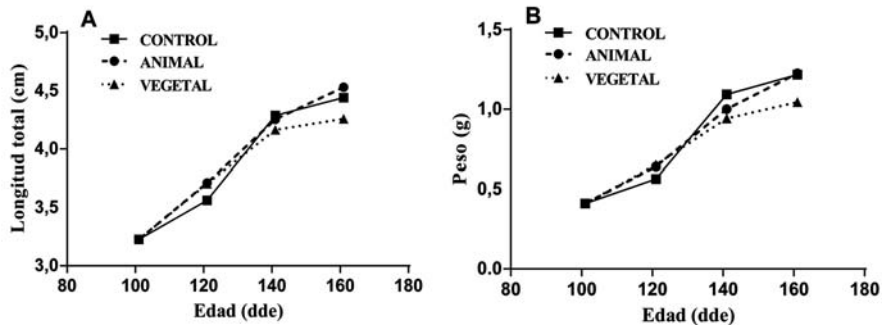


Figura 1.- Datos de longitud total (A) y de peso fresco (B) en juveniles de *C. labrosus* alimentados con tres piensos de diferente composición: (■) control, 50 % animal y 50 % vegetal; (●) animal, 100 % proteína animal; y (▲) vegetal, 100 % proteína vegetal; en muestras tomadas a los 101, 121, 141 y 161 días de edad post-eclosión ($n = 24$; medias \pm EEM). No existieron diferencias estadísticamente significativas en distintos grupos experimentales para el mismo punto de muestreo (ANOVA simple, $P < 0,05$).

Los parámetros de tasa específica de crecimiento (SGR), ganancia en peso (WG) y factor de condición (K), no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos testados al final del experimento (Fig. 2). Por su parte, los resultados aportados para los parámetros factor de conversión del alimento (FCR), eficiencia alimentaria (FER) y tasa específica de alimentación (SFR) mostraron la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los especímenes alimentados con pienso vegetal y pienso control (Fig. 3).

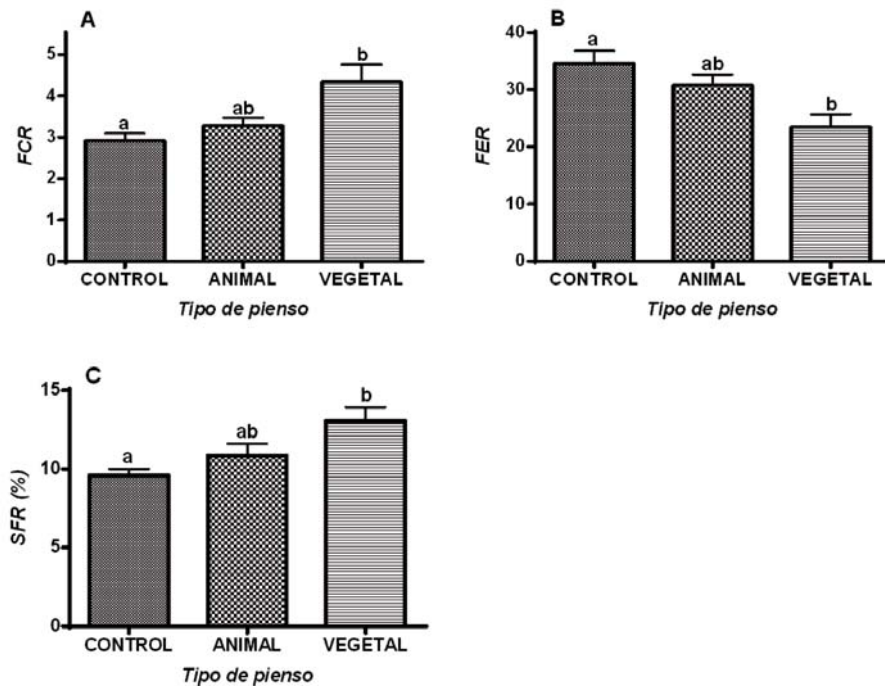


Figura 2.- Índices SGR (A), WG (B) y K (C) en juveniles de *C. labrosus* alimentados con tres piensos de distinta composición: (■) control, 50 % proteína animal y 50 % proteína vegetal; (▨) animal, 100 % proteína animal; y (□) vegetal, 100 % proteína vegetal; en muestras tomadas a los 101, 121, 141 y 161 días de edad post-eclosión ($n = 24$; medias \pm EEM).

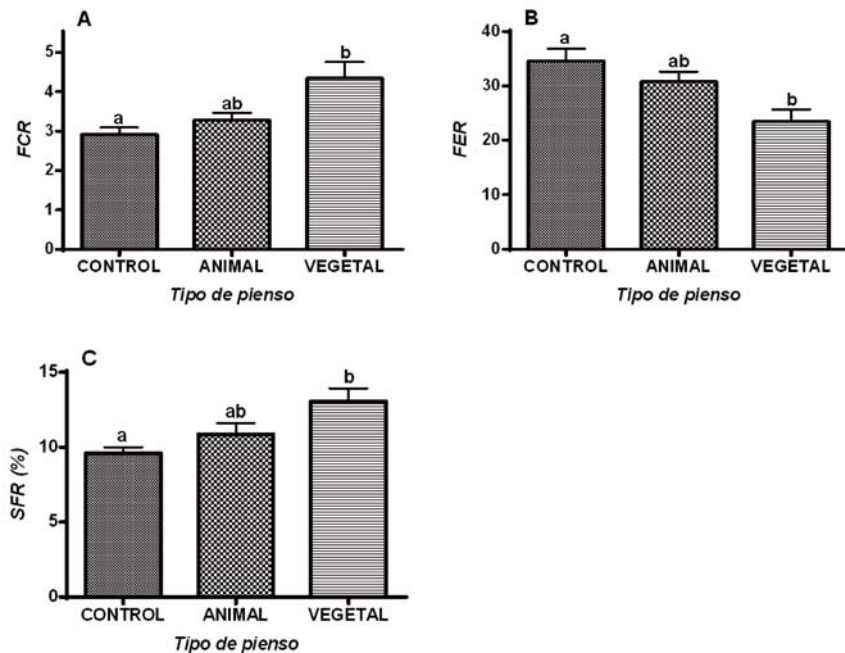


Figura 3. Índices FCR (A), FER (B) y SFR (C) en juveniles de *C. labrosus* alimentados con tres piensos de distinta composición: (■) control, 50 % proteína animal y 50 % proteína vegetal; (▣) animal, 100 % proteína animal; y (▨) vegetal, 100 % proteína vegetal; en muestras tomadas a los 101, 121, 141 y 161 días de edad post-eclosión ($n = 24$; medias \pm EEM). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para un mismo pienso para distinto grupo experimental a tiempo final (ANOVA simple, $P < 0,05$).

DISCUSIÓN

Estudios previos sobre la formulación de piensos para la acuicultura realizados a partir de inclusiones con alto contenido de proteínas vegetales, han mostrado reducciones en el crecimiento de diferentes especies (*Salmo salar*: Refstie *et al.*, 2000; Opstvedt *et al.*, 2003; *Psetta maxima*: Fournier *et al.*, 2004; *Sparus aurata*: Gomez-Requeni *et al.*, 2004). Sin embargo, para el caso del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) Silva *et al.* (2009) observaron como ejemplares de esta especie presentan crecimientos similares a los observados para el grupo que contenía la harina de pescado como ingrediente principal (control) dependiendo

del porcentaje de sustitución y del suplemento de diferentes aminoácidos esenciales. Este mismo efecto se puso de manifiesto en ejemplares de *Oncorhynchus mykiss* alimentados con piensos parcialmente sustituidos con harina de soja (Refstie *et al.*, 2000). A la vista de nuestros resultados, el presente estudio concuerda con lo descrito anteriormente en otras especies, revelando que dietas con diferente proporción de harinas de pescado (50 % ó 100 % de sustitución), originó un crecimiento similar tanto en peso como en longitud en juveniles de *C. labrosus* (101-161 dde), al menos durante los 60 días que duró el experimento. En cuanto a los índices SGR y WG, la ausencia de diferencias a tiempo final concuerda con los datos de crecimiento en peso y longitud, mostrando que la tasa de crecimiento para los tres piensos testados ha sido la misma. Además, el factor de condición (K) no reveló diferencias en ninguno de los grupos analizados, observándose por tanto un crecimiento equitativo en cuanto a peso y longitud.

Estudios previos que combinan diferentes factores en relación a las tasas de conversión del alimento indican que bajas tasas de alimentación frente a otras mayores producen una mejor conversión del alimento debido a la optimización de los procesos digestivos (Zoccarato *et al.*, 1994; Van Ham *et al.*, 2003; Eroldogan *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos para los índices FCR, FER y SFR muestran como la presencia total o parcial de harina de origen animal producen tasas mayores de aprovechamiento alimenticio. Este mismo hecho ha sido descrito para el caso de otras especies, en donde la sustitución de harinas animales por otras de origen vegetal producen un aumento en el índice FCR (*S. aurata*: Robaina *et al.*, 1995; *S. salar*: Refstie *et al.*, 1998, Refstie *et al.*, 2000; Opstvedt *et al.*, 2003), con el subsecuente menor incremento de biomasa respecto a la ración de alimento aportada.

Los resultados obtenidos muestran cómo, a pesar de la existencia de diferencias entre los índices de conversión de alimento FCR, FER y SFR, el crecimiento producido por diferentes fuentes de proteína da lugar a un crecimiento similar, al menos, entre los pesos/edades testadas en este experimento. Dichos resultados avalan la posibilidad del engorde de esta especie con piensos que contengan una elevada sustitución de harinas de pescado.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado gracias al proyecto “Optimización del proceso de maduración y desove del mugilido (*Chelon labrosus*)”, co-financiado por el Ministerio de Educación (España) y el Fondo Social Europeo (BOE 258 del 26 de octubre de 2011) otorgado a GM-R. V. de las H. está financiado por un contrato temporal asignado al citado proyecto, y JAM-S por una beca

predoctoral (FPU, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación (España). Los autores agradecen al IES Els Alfacs, a través de Jordi Quintano, la cesión de las puestas sin las cuales no hubiera sido posible esta experimentación.

REFERENCIAS

- Ben Khemis I., Zouiten D., Besbes R., Kamoun F. 2006. Larval rearing and weaning of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) in mesocosm with semiextensive technology. *Aquaculture* 259: 190–201.
- Ben Khemis I., Gisbert E., Alcaraz C., Zouiten D., Besbes R., Zouiten A., Masmoudi A.S., Cahu C. 2012. Allometric growth patterns and development in larvae and juveniles of thick-lipped grey mullet *Chelon labrosus* reared in mesocosm conditions. *Aquaculture Res.* DOI: 10.1111/j.1365-2109.2012.03192.x
- Boglione C., Bertolini B., Russiello M., Cataudella S. 1992. Embryonic and larval development of the thick-lipped mullet (*Chelon labrosus*) under controlled reproduction conditions. *Aquaculture* 101: 349–359.
- Drake P., Arias A.M. 1984. Biología de los Mugílidos (Osteichthyes, Mugilidae) en los esteros de las Salinas de San Fernando (Cádiz). III. Hábitos alimentarios y su relación con la morfometría del aparato digestivo. *Investigaciones Pesqueras* 48 (2): 337-367.
- Eroldogan O.T., Kumlu M., Aktas M. 2004. Optimum feeding rates for European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. reared in seawater and freshwater. *Aquaculture* 231, 501-515.
- Fournier V., Huelvan C., Desbruyeres E. 2004. Incorporation of a mixture of plant feedstuffs as substitute for fishmeal in diets of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 236: 451–465.
- Gómez-Requeni P., Mingarro M., Caldach-Giner J.A., Medale F., Martin S.A.M., Houlihan D.F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J. 2004. Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fishmeal replacement by plant-protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 232, 493–510.
- Hardy, R.W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Res.* 41(5): 770-776.
- Opstvedt J., Aksnes A., Hope B., Pike I.H. 2003. Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with increasing substitution of fishmeal with vegetable proteins. *Aquaculture* 221: 365–379.

- Refstie, S., Storebakken, T., Roem, A.J. 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fishmeal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture* 162, 301–312.
- Refstie S., Korsoen O.J., Storebakken T., Baeverfjord G., Lein I., Roem A.J. 2000. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 190: 49–63.
- Robaina L., Izquierdo M.S., Moyano F.J., Socorro J., Vergara J.M., Montero D., Fernández Palacios, H. 1995. Soybean and lupin seed meals as protein-sources in diets for Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) — nutritional and histological implications. *Aquaculture* 130: 219–233.
- Silva J.M.G., Espe M, Conceição L.E.C., Valente L.M.P. 2009. Senegalese sole juveniles (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) grow equally well on diets devoid of fish meal provided the dietary amino acids are balanced. *Aquaculture* 296: 309-317.
- Tacon A., Metian, M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146–158.
- Turchini G.M., Torstensen B.E., Ng W.K. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1: 10–57.
- Van Ham E.H., Berntssen M.H.G., Imsland A.K., Parpoura A.C., Wenderlaar Bongar S.E., Stefansson S.O. 2003. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrition retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 217: 547– 558.
- Watanabe T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68(2), 242-252.
- Zoccarato I., Benatti G., Boccignone M.L., Conti A., Napolitano R., Palmegiano G.B. 1994. Differences in performance, flesh composition and water output quality in relation to density and feeding levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)”, farming. *Aquaculture Res.* 25: 639–645.
- Zouiten D., Ben Khemis I., Besbes R., Cahu C. 2008. Ontogeny of the digestive tract of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) larvae reared in “mesocosms”. *Aquaculture* 279: 166-172.

La liseta (*Chelon labrosus*): crecimiento a partir de proteína vegetal en estadios juveniles

INTRODUCCIÓN

La tendencia actual es conseguir sustituir las proteínas animales en los alimentos acuícolas, de forma parcial o total, por diferentes proteínas y aceites de origen vegetal con el fin de reducir los costes de producción (Turchini et al., 2009; Hardy, 2010). Sin embargo, no sólo se hace necesario reemplazar la composición de los piensos, sino que además se deben encontrar especies que sean capaces de incorporar dichos alimentos de una forma eficiente. La liseta es una especie omnívora y presenta un buen potencial para disminuir el alto consumo de proteína animal, así como para diversificar las actuales especies cultivadas. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el crecimiento en juveniles de liseta, *C. labrosus* (Risso, 1827), en relación a la sustitución parcial o total de harinas de origen animal por otras de procedencia vegetal.

MATERIAL Y MÉTODOS

1) DISTRIBUCIÓN DE JUVENILES CON DISTINTA ALIMENTACIÓN



2) ANÁLISIS DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

A tiempo final

SGR: tasa específica de crecimiento
 WG: ganancia en peso
 K: factor de condición
 FCR: factor conversión de alimento
 FER: eficiencia alimentaria
 SFR: tasa específica de alimentación

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

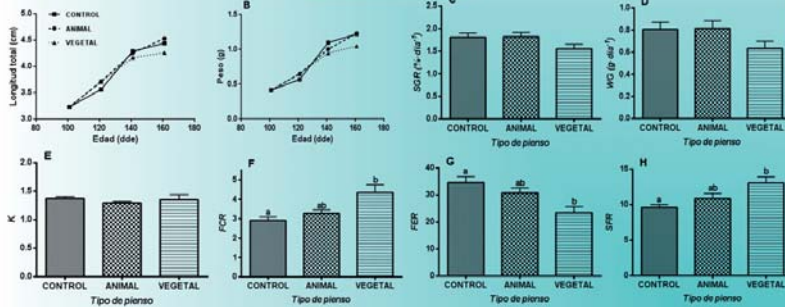


Figura 1. Datos de longitud total (A) y de peso fresco (B), índices SGR (C), WG (D), K (E), FCR (F), FER (G) y SFR (H) en juveniles de *C. labrosus* alimentados con tres piensos de diferente composición: Control (50 % proteína vegetal y 50 % proteína animal; Animal, 100 % proteína animal; y Vegetal, 100 % proteína vegetal) en muestras tomadas a los 101, 121, 141 y/o 161 días de edad post-eclosión (n = 24; medias ± EEM). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre distintos grupos experimentales a tiempo final (ANOVA simple, P < 0,05).

Los resultados obtenidos muestran cómo, a pesar de la existencia de diferencias entre los índices de conversión de alimento FCR, FER y SFR, el crecimiento producido por diferentes fuentes de proteína da lugar a un crecimiento similar, al menos, entre los pesos/edades testados en este experimento. Dichos resultados avocan la posibilidad del engorde de esta especie con piensos que contengan una elevada sustitución de harinas de pescado.

BIBLIOGRAFÍA

- Hardy, R.W., 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research* 41(5), 770-776.
 Turchini, G.M., Torstensen B.E. y Ng W.K. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado gracias al proyecto "Optimización del proceso de maduración y desove del mugilido (*Chelon labrosus*)", co-financiado por el Ministerio de Educación y el Fondo Social Europeo (BOE 258 del 26 de octubre de 2011). V de las H está financiada por un contrato temporal asignado al citado proyecto, y JAM-S por una beca predoctoral (FPU, Referencia AP2008-01194) del Ministerio de Educación (España). Los autores agradecen al IES Els Aïlacs, a través de Jordi Quintana, la cesión de las puestas sin las cuales no hubiera sido posible esta experimentación.

de las Heras V.¹
 Martos-Silcha J.A.^{1,2}
 Mata J.A.¹
 Martínez-Rodríguez G.¹
 Dias J.³
 Conceição L.E.C.³
 Yúfera M.¹

¹ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC), Campus Universitario Río San Pedro s/n. Puerto Real 11510, Cádiz.

E-mail: veronica.delasheras@icman.csic.es

² Dpto. Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Univ. Cádiz, Puerto Real 11510, Cádiz.

³ SPAROS Lda, Faro, Portugal



Larvicultura del pargo *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) en diferentes condiciones de cultivo

Suárez-Miler M.M., Jiménez M.T., Cárdenas S.

Centro IFAPA *El Toruño*, Apdo. Correos 16, 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, España.
manuelasuaresmiler@gmail.com

RESUMEN

El pargo (*Pagrus pagrus* L. 1758) es un espárido de alto valor comercial considerado como un buen candidato para la diversificación en acuicultura marina. Sin embargo, el cultivo larvario del pargo se enfrenta a dos problemas que restringen las posibilidades de desarrollo de su cultivo a escala comercial: a) escasa supervivencia larvaria y b) alta tasa de malformaciones óseas.

En el presente trabajo se estudiaron distintas condiciones de cultivo larvario y la influencia de tres variables (densidad de siembra, enriquecedor de rotífero e intensidad de luz) sobre el crecimiento larvario y la supervivencia a los 30 días después de la eclosión (DDE). No se observaron diferencias significativas en el crecimiento a distinta densidad de siembra (20 larvas L^{-1} frente 40 larvas L^{-1}), ni con el uso de distintos enriquecedores de rotíferos (microalga *Isochrysis galbana* frente a enriquecedor comercial). No obstante, se detectó diferencias en el crecimiento de las larvas cultivadas a distinta intensidad lumínica, siendo mayor la tasa específica de crecimiento (SGR) cuando los valores de intensidad de luz se situaron entre 200-600 lux frente a valores de < 200 lux (SGR = 16,03 %/día y SGR = 8,90 %/día, respectivamente; $P < 0,05$ en la comparación de rectas de regresión).

PALABRAS-CLAVE

Larvicultura, pargo, *Pagrus pagrus*, densidad, enriquecedores, iluminación.

INTRODUCCIÓN

El pargo es un especie marina muy apreciada por la calidad de su carne, con buena aceptación por parte de los consumidores (García-García *et al.*, 2008), lo cual la convierte en una especie potencialmente candidata a la diversificación de la acuicultura marina (Cárdenas y García, 2006; Kentouri *et al.*, 1995; Hernández-Cruz *et al.*, 1997). Existen varios estudios sobre distintas condiciones de cultivo larvario desarrollados en Europa en los que se pone de manifiesto su alta tasa de crecimiento (en relación a otros espáridos) aunque algunos problemas asociados como baja tasa de supervivencia larvaria (Conides *et al.*, 2000), aparición de malformaciones esqueléticas (Roo, 2010) y decoloración en juveniles (Kentouri *et al.*, 1995).

Las larvas de pargo, al igual que otros peces marinos, una vez consumidas las reservas del saco vitelino y abren la boca (3 DDE) comienzan la etapa de alimentación exógena con presas vivas. Estas presas cultivadas en masa (rotíferos y *Artemia*) son deficientes en ácidos grasos poli-insaturados y aminoácidos por lo que es preciso un enriquecimiento previo a fin de garantizar la calidad del alimento vivo. Asimismo, las larvas de pargo son comedores visuales, que poseen un sistema visual y digestivo incompleto. Una vez consumidas estas reservas vitelinas las larvas han de estar preparadas para empezar a alimentarse, lo cual requiere el desarrollo de los órganos y sistemas involucrados en la captura y digestión del alimento (Roo, 2010).

Este estudio analizó la influencia de tres variables en las condiciones de cultivo sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas: densidad inicial de siembra (20 larvas L⁻¹ frente 40 larvas L⁻¹), enriquecedor del rotífero, (microalga *Isochrysis galbana* frente a enriquecedor comercial) e intensidad de luz (intensidad < 200 lux frente a intensidad 200-600 lux). Los cultivos larvarios se desarrollaron en tanques cilindro-cónicos de 0,6 m³.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los huevos utilizados para el cultivo larvario procedían de puestas espontáneas de reproductores de pargo estabulados en un tanque exterior rectangular 100 m³ en circuito abierto y mantenidos en condiciones naturales de temperatura y fotoperíodo. Como parámetro de calidad de la puesta se utilizó la tasa de eclosión aparente (TEA):

$$\text{TEA} = (\text{n}^\circ \text{ larvas eclosionadas} / \text{n}^\circ \text{ huevos flotantes}) \times 100$$

Los cultivos larvarios se desarrollaron en 12 tanques cilindro-cónicos de PRFV de 0,6 m³. Las larvas fueron sembradas a una edad de 2 DDE (días después de la eclosión). Se aplicó la técnica de cultivo de “aguas verdes”, consistente en la adición de microalgas *Nannochloropsis gaditana* (0,3 x10⁶ cel mL⁻¹) e *Isochrysis galbana*, T-Iso, (0,05 a 0,1 x 10⁶ cel mL⁻¹). La adición de rotífero abarcó desde los 3 DDE hasta 25 DDE a una concentración de 10 rot mL⁻¹. El suministro de *Artemia* comenzó a los 25 DDE con 0,5-1 nauplios mL⁻¹ aumentando progresivamente, el enriquecimiento de nauplios de *Artemia* 48 h fue con microalgas T-Iso.

Se realizaron tres experimentos:

- 1) Efecto de la densidad de siembra (20 larvas L⁻¹ y 40 larvas L⁻¹) sobre el crecimiento de las larvas.
- 2) Efecto del enriquecimiento del rotífero con microalgas vivas T-Iso o preparado comercial de ácidos grasos esenciales (Origreen de Skretting S.L.) sobre el crecimiento de las larvas.
- 3) Efecto de las condiciones lumínicas (<200 lux y 200-600 lux, medidas en superficie del agua) sobre el crecimiento larvario.

La evolución del peso de las larvas se ajusta a la ecuación $P = a e^{bt}$, donde P es el peso en microgramos (μg), a = peso inicial; b = pendiente; t = tiempo en días. El coeficiente “b” es conocido como tasa de crecimiento. La tasa específica de crecimiento (SGR, siglas en inglés) se expresa en %/día. Siendo $\text{SGR} (\% / \text{día}) = b \times 100$.

Cada 10 días se tomaron muestras representativas de cada uno de los tanques para estimar el peso seco (estufa a una temperatura de 60 °C hasta peso constante). El tratamiento estadístico ha consistido en la comparación de las pendientes de las rectas de crecimiento.

RESULTADOS

Las puestas espontáneas comenzaron el 3 de marzo y finalizaron el 22 de abril de 2012 (51 días). Se obtuvieron un total de 31,6 millones de huevos flotantes. El valor medio de la TEA estimado fue 46 ± 21 %. Las condiciones en las que se mantuvieron los tanques de cultivo larvario se detallan en la tabla I.

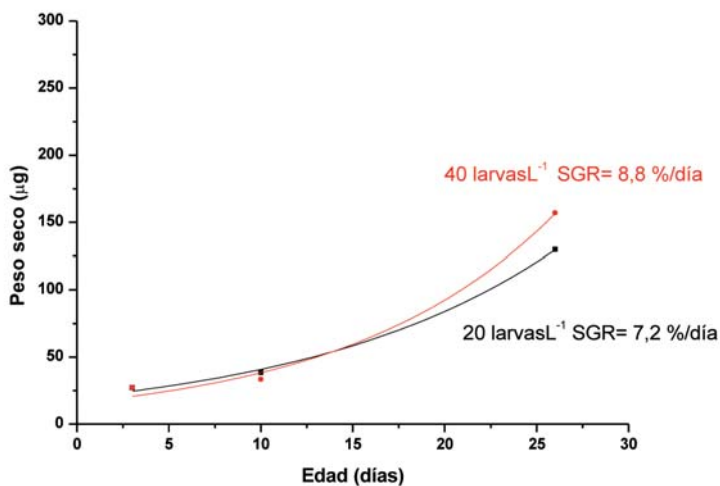
Tabla I.- Condiciones de temperatura, salinidad, pH, fotoperíodo, aireación y renovación del aguas del cultivo larvario del pargo.

Temperatura	16,6 a 21,8 °C			
Salinidad	33 a 38 ppt			
pH	6,9 a 8,5			
Fotoperíodo	24 L (días 3 a 24)		15 L: 9 O ó natural desde día 25	
Aireación	suave, con burbuja grande, alrededor de malla central			
Renovación	0 % (días 3-10)	25 % (días 11-20)	40 % (días 21-24)	>50 % a partir día 25

No se detectaron diferencias significativas en el crecimiento de las larvas de pargo sembradas a distinta densidad (20 larvas L⁻¹ vs 40 larvas L⁻¹), obteniéndose las siguientes tasas de crecimiento SGR = 7,2 %/día y 8,8 %/día, respectivamente (Fig.1). Tampoco se observaron diferencias significativas en el crecimiento de las larvas utilizando distintos enriquecedores del rotífero (microalgas vivas T-Iso vs enriquecedor comercial), obteniéndose las siguientes tasas de crecimiento SGR = 12,5 %/día y 12,8 %/día, respectivamente (Fig. 2). No obstante, si se observaron diferencias significativas (P<0,05) en la comparación de las pendientes de las rectas de crecimiento en los cultivos larvarios mantenidos a distinta intensidad lumínica (Fig. 3). El valor más alto de la tasa de crecimiento se obtuvo cuando se utilizó una intensidad lumínica entre 200-600 lux (SGR = 16,0 %/día), frente a obtenida con < 200 lux (SGR = 8,9%/día). Los parámetros de las ecuaciones de crecimiento obtenidos para cada una de las variables estudiadas se muestran en tabla II.

Tabla II. Parámetros de las ecuaciones de crecimiento para distintas densidades de siembra, distinto enriquecedor de rotífero y distinta intensidad lumínica.

Variable		a	b	R ²
Densidad siembra	20 larvas L ⁻¹	19,7	0,07	0,99
	40 larvas L ⁻¹	15,8	0,08	0,99
Enriquecedor rotíferos	T-Iso	12,5	0,12	0,99
	comercial	10,8	0,12	0,98
Intensidad lumínica	<200 lux	15,4	0,08	0,99
	200-600 lux	8,3	0,16	0,99

**Figura 1.-** Evolución del crecimiento en peso seco (μg) de larvas de pargo con distinta densidad de siembra. Las condiciones del experimento fueron las siguientes: Enriquecedor de rotíferos: T-Iso e intensidad lumínica < 200 lux.

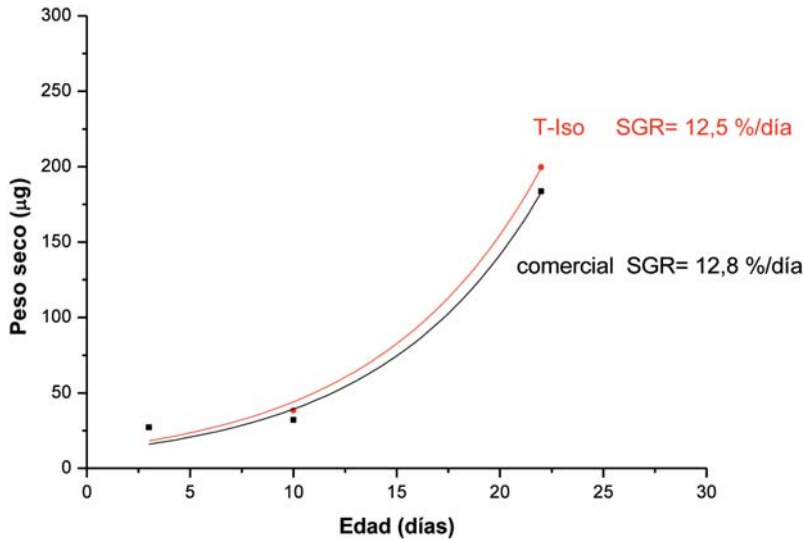


Figura 2.- Evolución del crecimiento en peso seco (μg) de larvas de pargo con dos enriquecedores del rotífero. Las condiciones del experimento fueron las siguientes: Densidad de siembra: 40 larvas L^{-1} e intensidad lumínica: 200-600 lux.

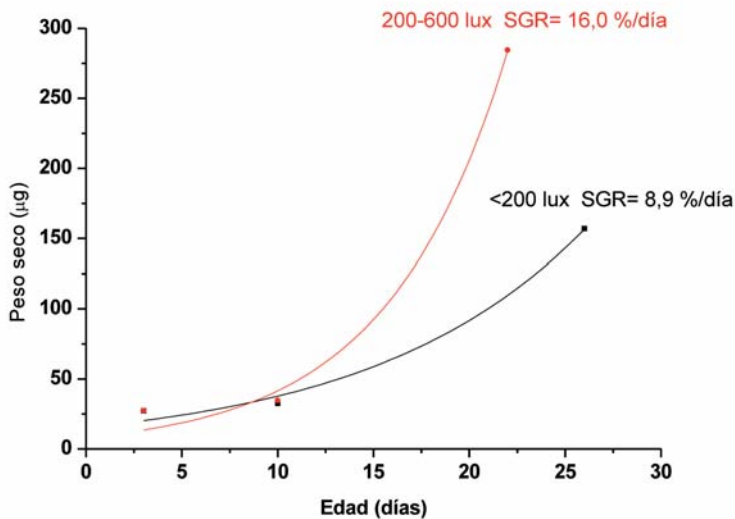


Figura 3.- Evolución del crecimiento en peso seco (μg) de larvas de pargo en distinta intensidad de luz. Las condiciones del experimento fueron las siguientes: Densidad de siembra: 40 larvas L^{-1} y enriquecedor de rotíferos: T-Iso.

En relación a la supervivencia larvaria, en ninguno de los experimentos realizados se superaron los 30 días de cultivo, resultados distintos a los obtenidos por otros autores como Búke *et al.* (2005) con 15 % de supervivencia de larvas a 30 DDE cultivadas en tanques de 6 m³ y Roo (2010) con 21,8 % de supervivencia en larvas de 50 DDE cultivadas en sistemas semiintensivos, donde la mayoría de las muertes ocurrió entre los días 3-15 de cultivo.

DISCUSIÓN

Los mejores resultados de tasa de crecimiento ($SGR = 16,0 \%$ /día) obtenidos en el cultivo larvario en condiciones de mayor intensidad de luz se muestran en concordancia con los resultados obtenidos por Roo *et al.* (1999) quienes pusieron de manifiesto el paralelismo entre el desarrollo de los sistemas digestivo y visual y la importancia que ambos sistemas poseen al inicio de la captura de presas, todo ello con implicaciones en la gestión del criadero, porque una adecuada elección de las condiciones de luz (junto al tamaño de la presa) contribuyen al éxito del cultivo larvario.

Con relación al efecto de la densidad de siembra, la obtención de resultados similares para distinta densidad podría deberse al sistema de cultivo empleado, con tanques de volumen (0,6m³) inferior al utilizado por otros autores (Hernández-Cruz *et al.*, 1997; Roo, 2010; Búke *et al.*, 2005), que obtuvieron mejores resultados de crecimiento y supervivencia. El uso de tanques más grandes (5-40 m³) y condiciones semiintensivas (2-10 larvas L⁻¹) está especialmente indicado para el cultivo larvario de nuevas especies (Divanach y Kentouri, 2000; Roo *et al.*, 2010).

Existen estudios sobre el uso de diferentes enriquecedores del rotífero (biomasa congelada de microalgas frente a algas vivas) en el cultivo larvario de dorada (*Sparus aurata*) (Cañavate y Fernández-Díaz, 2001), donde no se encontraron diferencias en el crecimiento y supervivencia de las mismas, no obstante, detectaron un deterioro en la calidad del agua del tanque. Así pues, como indica Roo (2010) es preferible el uso de microalgas vivas por sus efectos beneficiosos sobre el cultivo, ya que contribuye a una mayor oxigenación del agua, ayuda a la eliminación de productos de desecho procedentes de las larvas y de las presas vivas y favorece el control de la flora bacteriana en el tanque.

CONCLUSIONES

La cría larvaria es una etapa muy susceptible a las condiciones de cultivo por lo que es recomendable el uso de un régimen lumínico apropiado que favorezca la captura del alimento. El aporte del alimento ha de ser adecuado en cantidad y calidad, por lo que es necesario enriquecer las presas vivas, deficitarias en ácidos grasos poli-insaturados y aminoácidos. El uso de sistemas de producción semiintensivos (grandes volúmenes junto a bajas densidades de siembra) parece ser un factor importante en el éxito de esta etapa.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se integra en el convenio de colaboración entre IFAPA-CUPIBAR para la realización del proyecto experimental “Optimización del cultivo larvario de urta (*Pagrus auriga*) y pargo (*Pagrus pagrus*).

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento a todo el personal del Criadero del Centro IFAPA *El Toruño*.

BIBLIOGRAFÍA

- Büke E., Akpınar Z., Ayekin B., Dereli H., 2005. Spawning performance and larval rearing of red porgy (*Pagrus pagrus* L., 1758) under culture conditions. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 22: 303–309.
- Cañavate J.P., Fernández-Díaz, C., 2001. Pilot evaluation freeze-dried microalgae in the mass rearing of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 193: 257-269.
- Cárdenas S., García N., 2006. Acuicultura de la hurta (*Pagrus auriga*) y el bocinegro (*Pagrus pagrus*) en Andalucía. En: *Avances en la Investigación Pesquera y Acuícola en el Ámbito del Estrecho de Gibraltar*. Hernando J.A., Manzano J.C. (eds.): 337-377. OPAM, Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España.
- Conides A.J., Nengas I., Audadas S.D., 2000. Current advances in new marines finfish species aquaculture of the National Centre for Marine Research (Greece). *Cahiers Options Méditerranéennes* 47: 365-370.

- Divanach P., Kentouri M., 2000. Hatchery techniques for specific diversification in Mediterranean finfish larviculture. *Cahiers Options Mediterranennes* 47: 75-87.
- García-García B., Hernández M.D., Cárdenas S., Muñoz J.L., Rodríguez C., Carrasco J.F., Pastor E., Gráu A., Ginés R., Hernández-Cruz C.M., Estévez A., Bellot O., Rodríguez L.M., Otero-Llovo J., Martínez S., Tomás A., 2008. *Análisis sensorial de cinco especies de especies de espáridos (besugo, dentón, hurta, pargo y sargo picudo) en ocho localidades costeras de España*. Centro de Publicaciones, Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Madrid: 66 pp.
- Hernández-Cruz C.M., Salhi M., Bessonart M., Fernández-Palacios H., Valencia A., Izquierdo M.S., 1997. First experiences on larval culture of red porgy, *Pagrus pagrus*, (Osteichthyes, Sparidae). En: *VI Congreso Nacional de Acuicultura* (9-11 julio 1997. Cartagena, España). Costa, J., Abellán, E., García B., Ortega A., Zamora S. (eds).
- Kentouri M, Pavidis M., Papandroulakis N., Divanach P., 1995. Culture of red porgy *Pagrus pagrus* in Crete. Present knowledge, problems and perspectives. *Cahiers Options Mediterranennes* 16: 65-78.
- Roo F.J., 2010. *Improvements in the production technology of red porgy (Pagrus pagrus) larvae and fry: Importance of rearing conditions and diet nutritional value on their quality*. Tesis Doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Canarias España. 329 pp.
- Roo F.J., Hernández-Cruz C.M., Socorro JA Fernández-Palacios H., Izquierdo M.S., 2010. Advances in rearing techniques of *Pagrus pagrus*, (Linnaeus, 1758): comparison between intensive and semi-intensive larval rearing systems. *Aquaculture Research* 41: 433-449.
- Roo F.J., Socorro J.A. Izquierdo S., Caballero MJ, Hernández-Cruz C, Fernández A., Fernández-Palacios H., 1999. Development of red porgy *Pagrus pagrus* (linnaeus, 1758) visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits. *Aquaculture* 179: 499-512.



LARVICULTURA DEL PARGO, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758), EN DIFERENTES CONDICIONES DE CULTIVO.

Suárez-Miller, M. M., Jiménez, M. T. y Cárdenas, S.
Centro IFAPA El Toruño, Apdo. 16, 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, España.



INTRODUCCIÓN

El pargo (*Pagrus pagrus*) es un espirodo de alto valor comercial considerado como un buen candidato para la diversificación en acuicultura (Cárdenas y García, 2006). Existen varios estudios sobre distintas condiciones de cultivo larvario desarrollados en Europa en los que se pone de manifiesto su alta tasa de crecimiento (en relación a otros espirodos) aunque con altas tasas de mortalidad (en relación a otros espirodos) aunque con altas tasas de mortalidad y aparición de malformaciones esqueléticas (Ríos, 2009). En el presente estudio se analiza la influencia de tres factores en las condiciones de cultivo sobre la supervivencia y el crecimiento larvario. Los factores estudiados en dos experimentos distintos han sido: tipo de enriquecedor del rotífero, densidad larvaria y fotoperíodo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los huevos utilizados para los experimentos de cría larvaria procedían de puestas espontáneas de un lote de reproductores de pargos mantenidos en un tanque de volumen 2000m³, en circuito cerrado y condiciones naturales de temperatura y fotoperíodo. La calidad de la puesta se ha estimado mediante las tasas de eclosión y fecundación aparentes. Los experimentos se realizaron en 12 tanques cilindro-cónicos de 0,6 m³. Las larvas fueron sembradas con 2 dde (días después de la eclosión). Desde el inicio de la alimentación exógena (3 dde) la concentración diaria de rotíferos en los tanques se ha mantenido en 10 rotíferos mL⁻¹. Para asegurar el enriquecimiento de los rotíferos en los tanques se ha utilizado el sistema conocido como aguas verdes, añadiendo diariamente microalgas *I. galbana* y *Nannochloropsis gaditana*. El peso seco de las larvas se ha determinado en muestras de 30 a 60 individuos por tanque, secadas en estufa a 60° C hasta peso constante. Las condiciones de cultivo para cada experimento se detallan en la Tabla I.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las puestas naturales comenzaron el 3 de marzo de 2012 y finalizaron el 22 de abril de 2012 (67 días). Los valores medios de calidad de la puesta han sido Tasa de Eclosión Aparente: 74% (DS: 14) y Tasa de Fecundación Aparente: 46 % (DS: 21). No se han encontrado diferencias en el crecimiento de las larvas en los tratamientos con enriquecedor del rotífero comercial (Origreen de Skretting) y natural (microalgas *Isocrysis galbana*, T-Iso) ni diferencias de crecimiento a distinta densidad larvaria, aunque sí se han encontrado diferencias en las tasas de crecimiento con diferentes fotoperíodos, obteniéndose valores inferiores a los descritos por otros autores (Böke *et al.* 2005) (Fig. 1). En relación a la supervivencia larvaria, en ninguno de los experimentos realizados se superaron los 30 días de cultivo.



Tabla I.- Condiciones de cultivos de los experimentos.

EXPERIMENTO 1	EXPERIMENTO 2
Fotoperíodo natural	Fotoperíodo 8L:16O 200-600 lux
Temperatura : 16,6-19,5 °C	Temperatura : 18,0-21,8 °C
Densidad larvaria : 20 larvas.L ⁻¹ 40 larvas.L ⁻¹	Densidad larvaria : 40 larvas.L ⁻¹
Enriquecedor de rotíferos: comercial (Origreen de Skretting) natural (microalgas T-Iso)	Enriquecedor de rotíferos: comercial (Origreen de Skretting) natural (microalgas T-Iso)

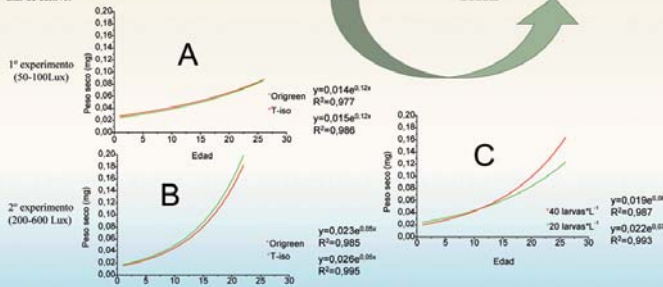


Figura 1.- Crecimiento de las larvas de pargo con distintos enriquecedores de rotíferos (A), con distintos enriquecedores y fotoperíodo (B) y a distintas densidades (C).

CONCLUSIONES

El cultivo larvario junto con el acondicionamiento de los reproductores son fases críticas de la producción, siendo la fase larvaria especialmente vulnerable a las condiciones de cultivo por lo que se recomienda mantener la temperatura entre los 18-20°C y el fotoperíodo de 8L:16O. El aporte de alimento ha de ser adecuado tanto en calidad como en cantidad. Los rotíferos pueden ser enriquecidos mediante productos naturales (microalgas T-Iso) o mediante productos comerciales. Con el uso de Origreen (Skretting) se han obtenido resultados similares en cuanto a crecimiento larvario que con el uso de T-Iso lo cual facilita al productor la elección de cualquiera de ellos. En relación a las densidades se recomienda no superar 40 Larvas.L⁻¹ aunque son necesarios estudios posteriores.

REFERENCIAS

Héala, E., Algunes, Z., Apelin, B. y Dorci, H. (2005). Spawning performance and larval rearing of red pargo (*Pagrus pagrus*, L., 1758) under culture conditions. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 22, 363-368.
Cárdenas, S. y García, N. (2006). Acuicultura de la boga (*Pagrus auratus*) y el besugo (*Pagrus pagrus*) en Andalucía. En: *Avances en la Investigación Pesquera y Acuicultura en el Instituto de Estudios de Cádiz*. IFAPA, Universidad de Cádiz, Cádiz, España, pp. 237-277.
Ríos, J.J. (2009). *Improvements in the production technology of red pargo (*Pagrus pagrus* larvae and fry): Importance of rearing conditions and their nutritional value on their quality*. PhD Thesis, 329 pp.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del convenio de colaboración entre IFAPA-CRIPAD para la realización del proyecto de desarrollo experimental "Optimización del cultivo larvario de Hacha, Pargo erizo y Pargo, Pargo negro".

Main pathologies affecting the common cockle *Cerastoderma edule* from the Spanish Mediterranean coast

Rojas M., Aceituno P., Furones D., Carrasco N.

IRTA, Sant Carles de la Ràpita, Ctra. Poblenou Km 5, 43540, Tarragona, Spain.

Catalonia's Aquaculture R&D and innovation Reference Network (XRAq)

noelia.carrasco@irta.cat

ABSTRACT

Scarce information is currently available about the pathogens that can affect to the common cockle (*Cerastoderma edule* Linnaeus, 1758) from the Mediterranean coast of Spain. *C. edule* samples were recollected during spring and summer from the Ebro Delta bays to carry out a pathological survey. Histological observations and *Perkinsus* ITS PCR showed the presence of a *Perkinsus* sp. parasite in *C. edule* tissues. This is the first time that such parasite is observed in such host, cockles, in the Spanish Mediterranean. Furthermore, other pathogens were also observed. Primary stages of *Marteilia* sp. and potential sporocysts of the parasite were observed in reduced cases in digestive gland and gills. Other pathologies as lesions remembering digestive epithelial virosis (DEV) and the presence of large *Rickettsia*-like colonies were observed in high prevalences in the studied individuals. The presence of trematodes, ciliates *Rynchodida*-like and the gregarine *Nematopsis* sp. were also recorded during histological observation. Pathogens found in *C. edule* could potentially cause some damage and perturbed its condition, especially OIE notifiable parasites belonging to the genus *Perkinsus* and *Marteilia*. Further molecular characterization of the *Perkinsus* sp. and *Marteilia*-like parasite observed need to be carried out in order of better identify the parasites. Moreover, the real impact of the observed *C. edule* pathogens on cockle, as well as in other cohabiting commercially bivalves needs to be urgently evaluated.

INTRODUCTION

C. edule is one of the most common and widely distributed bivalve species along the coast of most of European countries. The bays of the Ebro Delta in the south of Catalonia represent the main area of bivalve culture in the Mediterranean coast of Spain (Elandaloussi *et al.*, 2008). In these area, cockle natural banks are commonly cohabiting with other commercially important bivalves such as mussels *Mytilus galloprovincialis*, Japanese oyster *Crassostrea gigas*, flat oyster *Ostrea edulis*, and clams *Ruditapes decussates*, *R. philippinarum* and *Solen marginatus* (Carrasco *et al.*, 2008). There is little information available on pathogens affecting the common cockle on the Mediterranean. Recently, Carrasco *et al.* (2011a) described for the first time in Spain a *Marteilia* sp. infecting *C. edule*. The genetic profile of the observed *Marteilia* sp. suggested the potential existence of a new *Marteilia* species affecting bivalves in Europe (Carrasco *et al.*, 2012). The parasite *Marteilia* sp. is characterized by the formation of spores that consist of several cells, enclosed inside one another, which result from internal division of a stem cell (Comps, 1970; Herrbach, 1971; Desportes and Perkins, 1990). *Marteilia* sp. infects mainly the digestive tubules and the epithelia of stomach and intestine of several bivalve species inducing physiological disorders that often can be lethal for the animal (Grizel *et al.*, 1974; Alderman, 1979; Novoa *et al.*, 2005). In addition, lesions compatible with digestive epithelial virosis (DEV) has been detected observed previously in the study area during a mortality event of *C. edule*. The viral lesions were observed in all the examined specimens in moderate and high intensity (Carrasco *et al.*, 2011a). These lesions are characterized for empty compartments and yellow material in the tubules digestives (Hine and Wesley, 1997). The etiologic agent and its real effect on the host are still unknown. In order to increase knowledge on pathogens affecting *C. edule*, an exhaustive study on the cockle pathology was carried out on *C. edule* from natural banks of the Ebro Delta bays.

MATERIALS AND METHODS

A total of 120 individuals of common cockle (*C. edule*) from natural beds were collected from the Alfacs and Fangar Bays, in the Delta Ebro (Mediterranean coast of Spain), in March, May and July 2012 (Fig. 1). Cockles were dissected, fixed and prepared for histology and PCR amplification.

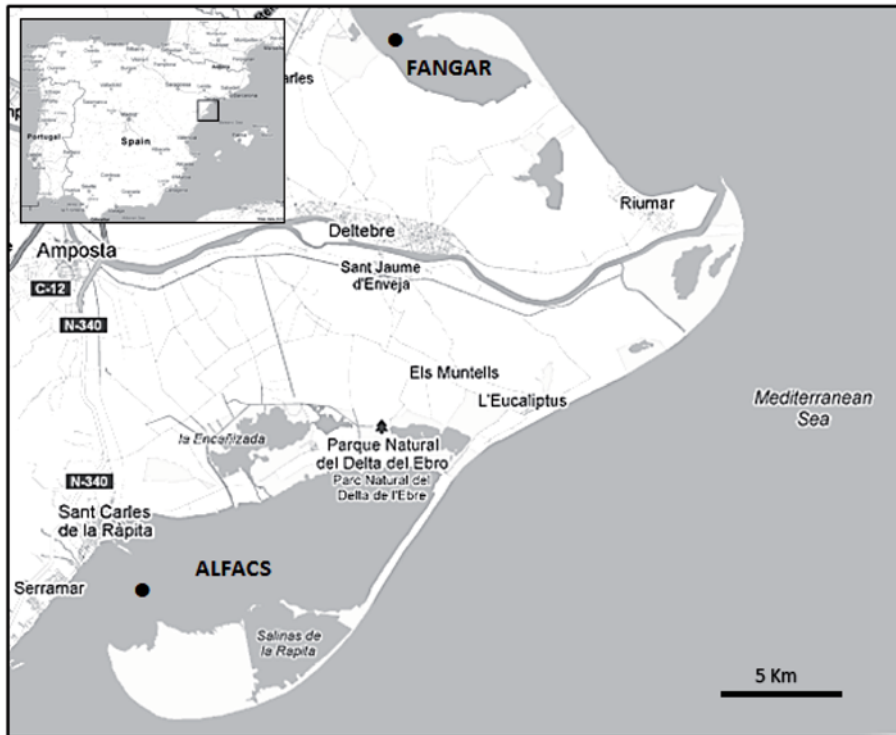


Figure 1.- Map of the Alfacs and Fangar bays in the Ebro Delta (Spain, NE).

HISTOLOGY AND PCR AMPLIFICATION

For histological observation a section of tissue containing main organs such as gills, gonad, mantle and digestive gland was extracted and was fixed in Davison's solution (10% glycerine, 20% formalin, 30% 95° ETOH, 30% H₂O filtered sea, 10% glacial acetic acid) and embedded in paraffin blocks. Sections of 2 and 3 μm thick were obtained with microtome and stained with haematoxylin and eosin (H&E). The histological observation was carried out under a light microscope Optech Biostar B5ICS. From tissues (gills and digestive gland) fixed in ETOH 96% DNA extraction was carried out with DNAeasy blood and tissue DNA isolation kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions. Then DNA was diluted (50 ng/μl) and prepared for PCR assays. The PCR assays IGS *Marteilia* were carried out in a total of sixty individuals following the methodology proposed by López-Flores *et al.* (2004). The PCR assay to detect *Perkinsus* sp. was performed in a total of six positive individuals previously detected by histology following the methodology proposed by Casas *et al.* (2002) and modified by Elandaloussi *et al.* (2009). The electrophoresis was prepared in 1.5 % agarose gel with ethidium bromide.

RESULTS

HISTOLOGICAL OBSERVATION

Histological observation allowed the detection of *Perkinsus* sp. in *C. edule* tissues. Between 17 and 84% of parasite prevalence was observed depending on the sampling date. Different *Perkinsus* sp. stages, from immature to mature trophozoites (sizing between 10 and 20 μm) were observed in the host tissues. Trophozoites observed were vacuolated and usually presented a peripheral nucleus with typical characteristics of this stage. Some trophozoites presented a micronucleus or small body with different positions and sizes inside the vacuole. Furthermore, the pathogen appears to be free in the tissues and there was no evidence of a host reaction in most of the cases (Fig. 2A and 2B). The presence of *Marteilia*-like parasites was observed in two out of the 120 *C. edule* individuals studied. A few primaries stages of *Marteilia* were observed in gills in a *C. edule* sample recollected in Alfacs Bay. Stages looking as a *Marteilia*-like sporocyst were observed in high intensity in digestive gland and gills (Fig. 2C) in a sample recollected in Fangar Bay. Furthermore, a high degree of destruction of the affected tissues was also observed. In most cockles analyzed (over 90% prevalence) were detected digestive epithelial virosis (DEV) lesions, generally in high intensity. Loss of epithelia of the tubules and yellow material was observed in affected gland digestive (Fig. 2D). Other pathogens observed in cockles during the study time were also recorded. This is the case of the big bacterial colonies of *Rickettsia*-like organisms were observed generally in high infection intensity and prevalence (between 13 and 61%), mainly in gills. The approximative size of those colonies was between 100 and 200 μm (Fig. 2E). In some cases these colonies were also observed in the tubules of the gland digestive. Furthermore, *Rynchodida*-like ciliates were observed in gills at high infection intensity (Fig. 2F) and with a peak prevalence of 30% in May sample. These ciliates are characterized for an oval shape and the presence of a big macro and micronucleus, of an approximative size of 20 μm . Moreover, same oocysts of the gregarine *Nematopsis* sp. were also observed in *C. edule* gill tissues (Fig. 2G). However, prevalences were low (less than 10%). Finally, Trematode sporocysts (S) containing developing cercariae (arrows) were detected in around 20% of prevalence in some cases all tissues were affected and high infection intensity was observed (Fig. 2H).

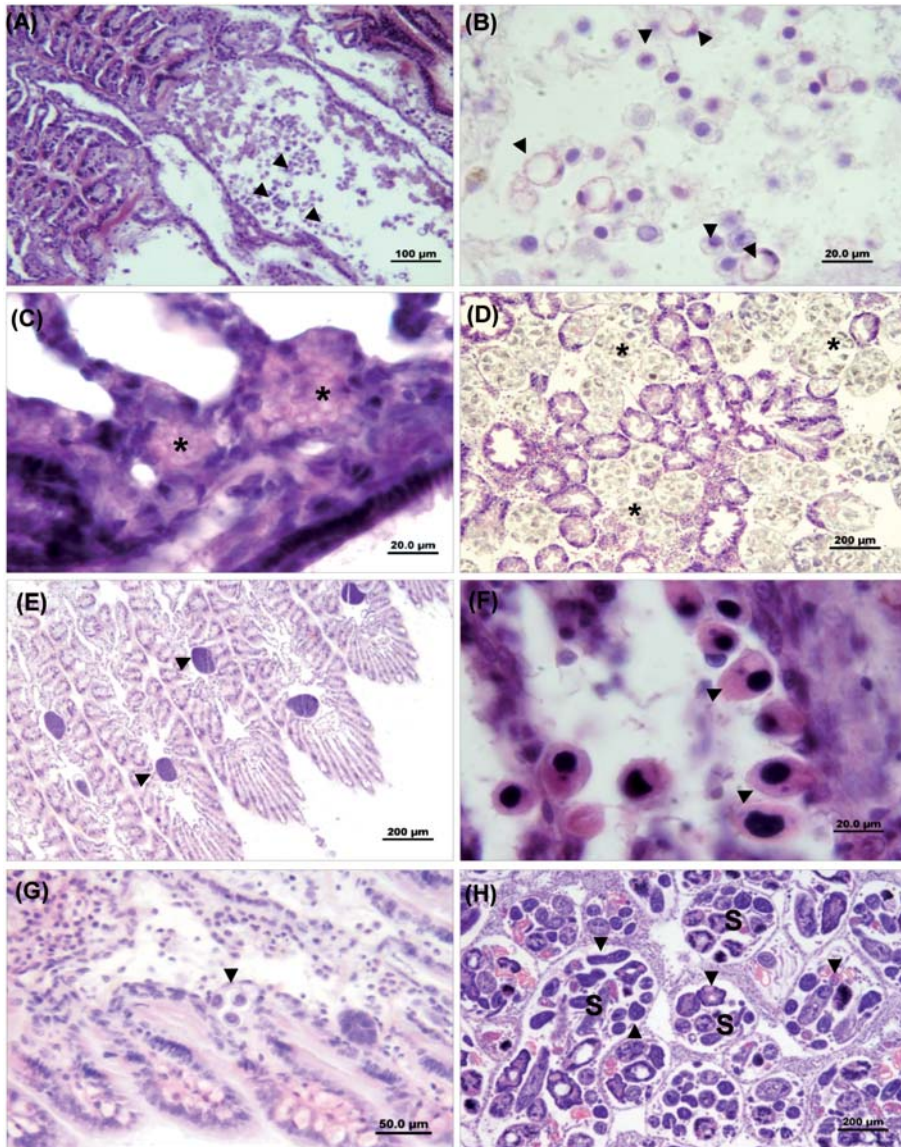


Figure 2.- (A) Group of *Perkinsus* sp. mature and vacuolated trophozoites (arrows). (B) Mature trophozoites between gill lamellae (arrows). (C) *Marteilia*-like on gills lamellae. (D) Digestive epithelial virosis (DEV) lesions in the digestive tubules. (E) High intensity of big bacterial colonies *rickettsia*-like (arrows) in gills. (F) *Rynchodida*-like ciliates (arrows) in gill tissues. (G) Oocysts of the gregarine *Nematopsis* sp. in gills. (H) Trematode sporocysts (S) containing developing cercariae (arrows) in digestive gland in high intensity. (H&E).

PCR AMPLIFICATION

Perkinsus sp. PCR assay (Casas *et al.*, 2002) showed amplification in two out of 6 the positives individuals analyzed. Positive PCR samples were collected in July and May 2012 (Fig. 3A). PCR assays resulted in four positives out of the sixty individuals analyzed by IGS *Marteilia* PCR (Lopez-Flores *et al.*, 2004) in samples from March (Fig. 3B, lane 2) and May 2012 (Fig. 3B, lanes 1, 3 and 4) recollected in Alfacs and Fangar bays of the Ebro Delta. Two of the samples coincided with the two positives observed in histological observation (lanes 2 and 4). However, in some of the cases other bands different to the expected size were also observed (lanes 2 and 3).

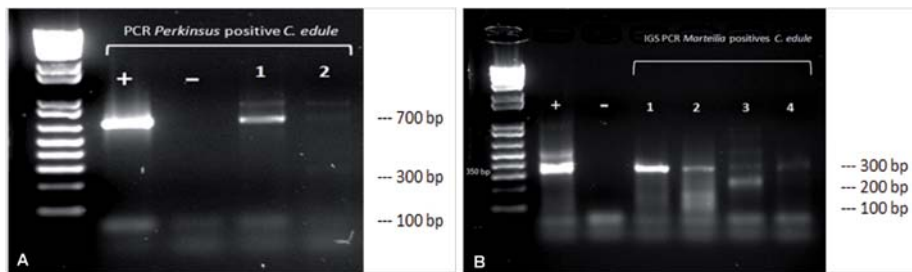


Figure 3.- (A) Agarose electrophoresis gel of amplified *Perkinsus* sp. PCR products. Lanes 1 and 2 show PCR positive amplifications for two of the studied individuals. The sample of line 1 was positive in high by histology. (B) Agarose electrophoresis gel of amplified *Marteilia* PCR products. Lanes of the left to right show negative control and positive samples (1 to 4) of *C. edule*.

DISCUSSION

The pathogens of the genus *Perkinsus* are protistan parasites which are responsible for important mortalities in different mollusc species (Villalba, 2008) and some of them such as *P. marinus* and *P. olseni* are included in the notifiable list of the O.I.E. (Word organization for Animal Health). *P. olseni* and *P. Mediterraneus* are known to affect bivalve molluscs of the European coasts including the Mediterranean Sea, however, other species as *P. marinus*, *P. qugwadi*, *P. chesapeakei* and *P. honshuensis* are most frequent on the coasts of the United States (Villalba, 2008). Studies focused on perkinsosis in the Mediterranean Coast of Spain are scarce (Elandaloussi *et al.*, 2008). Historically, during high mortalities episodes of the

commercial clams *R. decussatus* and *R. philippinarum* from the Ebro Delta Bays has been detected *Perkinsus* sp. parasites (Sagrìstà *et al.*, 1991; Santmarti *et al.*, 1995). Infection rates were in some cases up to 90% (Sagrìstà *et al.*, 1996). Ultrastructural observation of the parasite suggested that the species encountered in the Mediterranean Coast of Spain was *P. olseni* (Sagrìstà *et al.*, 1995; 1996). Elandaloussi *et al.* (2008) observed later prevalences of around 50% along the year and corroborated by species specific PCR assays that the *Perkinsus* species that infects the clam *R. philippinarum* in the Ebro delta bays was *P. olseni* (Elandaloussi *et al.*, 2009). The present study reports by first time the presence of *Perkinsus* sp. parasites in cockles from the Mediterranean coast of Spain. Further studies will be needed to better characterize the *Perkinsus* parasite observed and to assess the impact of such parasite.

In Europe, traditionally, two types of *Marteilia* have been reported *M. refringens*, parasitizing flat oyster *O. edulis* and in mussels *M. galloprovincialis* (Grizel *et al.*, 1974; Villalba *et al.*, 1993) and *M. maurini* in *M. galloprovincialis* and *M. edulis* (Comps *et al.*, 1982; Auffret and Poder 1985). *Marteilia* sp. was reported in the past in *C. edule* by Comps *et al.* (1975) in the French Atlantic Coast through histological and ultrastructural observation. Recently, molecular characterization of the *Marteilia* sp. parasite observed in *C. edule* from the Mediterranean Catalan Coast concluded with the existence of a new *Marteilia* type "C" and suggested the existence of a potential new *Marteilia* specie affecting bivalves in Europe. High prevalence (40%) and infection intensity of such parasite, mainly mature stages, was observed in digestive tubules during a mass cockle mortality event. However, in the present work almost no *Marteilia* sp. parasites were observed, even if the season were samples were recollected (spring and summer) is supposed to be the peak of the disease. Mainly, suspicion of primary stages were observed gill tissues, in very low intensity, by histological observation. IGS PCR assay (López-Flores *et al.*, 2004) showed other extra bands than the expected one. Potentially, it could be explained by the presence of different sexual stages of the parasite (Andree, personal communication). Furthermore, an unique sampled showed mature sporocyst stages of *Marteilia*-like in high intensity and uniformly distributed along the infected tissues (digestive gland and gills). Moreover, slight band of the expected size was observed during IGS PCR assays. Such result could be explained by the presence of environmental inhibitors from sediment and water, such as organic substances and phenolic compounds, as well as, humic acids, heavy metals, fats and polysaccharides (Wilson, 1997). Furthermore, in mollusks, it has also been reported that the glycogen may act as PCR inhibition (Hill *et al.*, 1991). Nevertheless, in order to complete the characterization of *Marteilia* spp. and types present in Ebro Delta cockles further studies are need. Furthermore, the ultrastructural characterization of the *Marteilia* parasite by transmission electronic microscopy would help to better understand its taxonomic position and phylogenic relationships.

Digestive epithelial virosis (DEV) is the result of small virus-like particles infection

associated with digestive tubule epithelial lesions (Jones *et al.*, 1996). This condition cause extensive destruction of the cells lining the digestive tubules, thus disrupting digestion and absorption of nutrients (Webb, 2008). DEV lesions were associated with mortality events of mussels *M. galloprovincialis* and *Perna canaliculus*. Nevertheless, no viral inclusion bodies were observed (Jones *et al.*, 1996). The lesions are characterized for empty compartments and yellow material in the tubules digestives (Hine and Wesney, 1997; Webb *et al.*, 2007). Previously, Carballal *et al.*, (2003) detected virus-like particles associated with heavy hemocytic infiltration and high mortality of *C. edule* from Galicia (Spain) but those DEV lesions were no described. Recently, Carrasco *et al.* (2011a) detected lesions remaining DEV disease in cockles. The impact of DEV lesions on the affected bivalves is not clear. TEM studies for viral identification affected tissues needs to be carried out in order to get information about that pathological condition.

Trematodes are the most prevalent macroparasites of cockle common and can exert a significant impact on their host populations depending on parasite species and infection intensity (de Montaudouin *et al.*, 2012). Larval stages of digenean trematodes have been reported in *C. edule* previously (Lauckner, 1983). In this work were detected trematode sporocysts containing developing cercariae, mainly on relatively destroyed digestive gland, gills and gonad tissue. Carballal *et al.* (2001) observed that high infections with sporocysts of digenean trematodes, in cockles, resulted in severe tissue damage that caused gonad castration and lead to death. In addition, cockles parasitized by numerous metacercariae have been associated with shell lesions, disturbances in shell growth and problems in burrowing (Lauckner, 1983). Jonsson and Andre' (1992) reported mass mortality of *C. edule* in Sweden caused by an infestation with sporocysts and metacercariae of the trematode *Cercaria cerastodermae*. Although the parasite seem to cause important damage to the cockle tissues, in this study, only low prevalences were observed suggesting that such parasite is not causing important problems to the Ebro Delta *C. edule* populations. However, its presence has to be taken in account for further *C. edule* epidemiological studies.

Rickettsia-like organisms are pathogenic bacteria which has obligatory intracellular multiplication within the parasite eukaryotic (Chen *et al.*, 2000). Such parasites have been identified over 25 species of marine mollusks around the world (Sun & Wu, 2004). Therefore these bacterial colonies are commonly found in the epithelial cells of the gills and digestive gland in a wide range of bivalves (Chang *et al.*, 1980). In scallops *Rickettsia*-like organisms have been associated with host mortality (Gulka *et al.*, 1983; Le Gall *et al.*, 1988). In cockle *Rickettsia*-like organisms colonies have been detected on gills and digestive tubules of the hepatopancreas, in some case the colonies are large and irregular shaped (Carballal *et al.*, 2001; Carrasco *et al.*, 2011b; 2012) detected high infection intensity and prevalences of up to 86% in the Ebro Delta Bays. Generally, the colonies observed in this study presented

characteristics similar to those mentioned by Carrasco *et al.*, (2011b) in relation to shape, intensity and prevalence (61%) presented in rare occasion's damage in the gill tissues.

The gregarine *Nematopsis* sp. has been mentioned previously in *C. edule* for several authors (Lauckner, 1983; Azevedo and Cachola, 1992; Bower *et al.*, 1994; Carballal *et al.*, 2001). Azevedo and Cachola (1992) have attributed to *Nematopsis* sp. massive mortalities of *C. edule* in natural beds from Southern Portugal. Their ultrastructural analysis revealed a complete destruction of the gill cells in the area immediately in contact with the oocysts as a result of the parasite activity. Carballal *et al.* (2001) affirms that gregarines of the genus *Nematopsis* utilize bivalves as intermediate hosts to complete their life cycles. Lauckner (1983) reported oocysts of *Nematopsis* in *C. edule* causing disintegration of cellular organization. Bower *et al.* (1994) associated the presence of *Nematopsis* sp. with focal hemocyte infiltration in cockle tissues. Presence of *Nematopsis* sp. in Galician cockles were not generally associated to significant damage in host tissues, however when number of observed *Nematopsis* sp. oocysts was high abundant focal hemocytic reactions and small alterations of gill filaments, resulting in lesions (Carballal *et al.*, 2001). *Rynchodida*-like ciliates were also observed, in gill lamellae in high infection intensity and prevalences up to 30%. However, it not appear to cause tissue damage. Previously, Carballal *et al.*, (2001) mentioned *Rynchodida*-like ciliates on *C. edule*, similar to the present observations, without causing significant pathological damage neither induce any hemocytic response. The impact on *C. edule* populations of the mentioned pathogens needs to be further studied.

CONCLUSIONS

This study presents the first report of *Perkinsus* sp. affecting *C. edule* in Delta Ebro Bays, and the Mediterranean coast of Spain. Others pathogens such as *Marteilia*-like parasites were also observed. Few is know about potential damage to the host. The impact of the observed pathogens on *C. edule* populations needs to be urgently studied.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by MICINN research project PABIMAR AGL2009-11607 and the BIVALIFE FP7_KBBE project. Research was developed at IRTA Institute of Sant Carles

de la Ràpita. I would like to thank to Dra. Noèlia Carrasco (IRTA) partially contracted by INIA-CCAA doctors contract and all staff of IRTA-Sant Carles de la Ràpita, specially to Beatriz Lacuesta (MICINN-PTA technical contract), Olga Bellot and Mar Gonzalez for their dedication, knowledge given and help in obtaining and processing samples. Moreover, thanks to Dr. Mike Hine (National Institute of Water and Atmospheric Research, New Zealand), Dra. Mercè Dufort (Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona) and Dr. Steve Webb (Cawthron Institute, New Zealand) for the comments and support given.

BIBLIOGRAPHY

- Alderman D.J. 1979. Epizootiology of *Marteilia refringens* in Europe. *Marine Fisheries Review* 41: 67–69.
- Auffret M., Poder M. 1985. Recherches sur *Marteilia maurini*, parasite de *Mytilus edulis* sur les cotes de Bretagne Nord. *Rev Trav. Inst. Pech. Marit.* 47: 105-109.
- Azevedo C., Cachola, R. 1992. Fine structure of the apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of two marine bivalve mollusks. *Diseases of Aquatic Organisms* 14: 69-73.
- Bower S. McGladdery E., Price, M. 1994. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. *Annual Review of Fish Diseases* 4: 1-199.
- Carballal 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). *Journal of Invertebrate Pathology* 78: 87–97.
- Carballal J., Villalba A., Iglesias D. 2003. Virus-like particles associated with large foci of heavy hemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain). *Journal of Invertebrate Pathology* 84: 234–237.
- Carrasco N., Arzul I., Berthe J., Fernández-Tejedor M., Dufort M., Furones, M.D. 2008. Delta de l'Ebre is a natural Bay model for *Marteilia* spp. (Paramyxia) dynamics and life cycle studies. *Diseases of Aquatic Organisms* 79: 65–73.
- Carrasco N. Roque A. Andree K.B., Rodgers C., Lacuesta B., Furones, M.D. 2011a. A *Marteilia* parasite and digestive epithelial virosis observed during a common edible cockle *Cerastoderma edule* mortality event in the Spanish Mediterranean coast. *Aquaculture* 321: 197–202.
- Carrasco N. Rodgers C., Lacuesta B., Damaso E., Andree K.B., Roque A., Furones M.D. 2011b. Infecciones bacterianas *Rickettsia*-like en bivalvos de interés comercial del Mediterráneo español. *XIII Congreso Nacional de Acuicultura*. En Equilibrio con el Medio Ambiente. Barcelona, 21-24 noviembre, 2011.

- Carrasco N., Andree K.B., Lacuesta B., Roque A., Rodgers C., Furones, M.D. 2012. Molecular characterization of the *Marteilia* parasite infecting the common edible cockle *Cerastoderma edule* in the Spanish Mediterranean coast: A new *Marteilia* species affecting bivalves in Europe. *Aquaculture* 324-325: 20-26.
- Casas S.M., Villalba A., Reece K.S. 2002. Study of Perkinsosis in the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). I. Identification of the etiological agent and in vitro modulation of zoosporulation by temperature and salinity. *Diseases of Aquatic Organisms* 50: 51–65.
- Comps M. 1970. Observations sur les causes d'une mortalité anormal des huîtres plates dans le bassin de Marennes. *Rev Trav. Inst. Pech. Marit.* 34: 317–326.
- Comps M., Grizel H., Tigé G., Duthoit, L. 1975. Parasites nouveaux de la glande digestive des mollusques marins *Mytilus edulis* L. et *Cardium edule*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Série II D* 281: 179–181.
- Comps M., Pichot Y., Papagianni P. 1982. Recherche sur *Marteilia maurini* n. sp. parasite de la moule *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 45: 211-14.
- Chang S.C., Harshbarger J.C., Otto, S.V. 1980. Status of cytoplasmic prokaryote infections and neoplasms in bivalve molluscs. *Sixth Food and Drug Science Symposium on Aquaculture: Public Health, Regulatory and Management Aspects*, February 12- 14, 1980.
- Chen S.C., Wang P.C., Tung M.C., Thompson K., Adams A. 2000. A *Piscirickettsia* salmonis-like organism in grouper, *Epinephelus melanostigma*, in Taiwan. *Journal of Fish Diseases* 23: 415–418.
- De Montaudouin X., Biniás C., Lassalle G.. 2012. Assessing parasite community structure in cockles *Cerastoderma edule* at various spatio-temporal scales. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 110: 54-60.
- Desportes I. Perkins F.O. 1990. Phylum Paramyxea. In: L. Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman (Eds.), *Handbook of Protoctista*. Boston, Jones and Bartlett Publishing pp. 30-35.
- Elandaloussi L.M., Carrasco N., Roque A., Fernández-Tejedor M., Furones, D. 2008. Occurrence of *Perkinsus* sp. in two clam species (*Ruditapes philippinarum* and *R. decussatus*) from the Ebro Delta, Spain. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 28: 1–9.
- Elandaloussi L.M., Carrasco N., Roque A., Andree K, Furones, M.D. 2009. First record of *Perkinsus olseni*, a protozoan parasite infecting the commercial clam *Ruditapes decussatus* in Spanish Mediterranean waters. *Journal Invertebrate Pathology* 100: 50–53.
- Gulka G. Chang P.W., Marti K.A. 1983. Prokaryotic infection associated with a mass mortality

- of the sea scallop *Placopecten rragellanicus*. *Journal of Fish Diseases* 6: 355- 364.
- Grizel H., Comps M., Bonami J.R., Cousserans F., Duthoit J.L., Penneç, M. 1974. Epizooty of the common oyster *Ostrea edulis*. Part 1. Study of the agent of digestive gland disease in *Ostrea edulis* (Linne). *Sciences Peche* 1–30.
- Herrbach B. 1971. Sur une affection parasitaire de la glande digestive de l'huître plate, *Ostrea edulis* Linne. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 35: 79–87.
- Hill W.E. Keasler S.P., Trucksess M.W. 1991. Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 707711.
- Hine P.M., Wesney B. 1997. Virus-like particles associated with cytopathology in the digestive gland epithelium of scallops *Pecten novaezelandie* and toheroa *Paphies ventricosum*. *Diseases of Aquatic Organisms* 29: 197–204.
- Jones J.B. Scotti P.D., Dearing S.C., Wesney, B. 1996. Virus-like particles associated with marine mussel mortalities in New Zealand. *Diseases of Aquatic Organisms* 25: 143–149.
- Jonsson P.R., André C. 1992. Mass-mortality of the bivalve *Cerastoderma edule* (Linnaeus) on the Swedish west coast caused by infestation with the digenean trematode *Cercaria cerastodermae*. *Ophelia* 36: 151-157.
- Lauckner G.. 1983. Diseases of mollusca: Bivalvia In: *Diseases of Marine Animals. Vol. II: Bivalvia to Scaphopoda*. O. Kinne (ed.): pp. 477–961.
- Le Gall G., Chagot D., Mialhe E., Grizel H.1988. Branchial *Rickettsial*-like infection associated with a mass mortality of sea scallop *Pecten maximus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 4: 229- 232.
- López-Flores I., De la Herrán R. Garrido-Ramos M., Navas J., Ruiz-Rejón C., Ruiz-Rejón 2004. The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiation Between *Marteilias* trains infecting oysters and mussels based on the rDNA IGS sequence. *Parasitology* 129: 411–419.
- Novoa B., Posada D., Figueras A. 2005. Polymorphisms in the sequences of *Marteilia* internal transcribed spacer region of the ribosomal RNA genes (ITS-1) in Spain: genetic types are not related with bivalve hosts. *Journal of Fish Diseases* 28: 331–338.
- Sagristà E., Durfort M., Azevedo C. 1991. Ultrastructural study of the life cycle of *Perkinsus* sp. (phylum Apicomplexa), parasite of a Mediterranean clam. *Coloq. Franco-Ibérico Microsc. Elec.*1: 145–146.
- Sagristà E., Durfort M., Azevedo C. 1995. *Perkinsus* sp. (Phylum Apicomplexa) in Mediterranean clam *Ruditapes semidecussatus*: Ultrastructural observations of the cellular response of the host. *Aquaculture* 132, 153-160.

- Sagristà E., Durfort M., Azevedo C. 1996. Ultrastructural data on the life cycle of the parasite, *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa), on the clam, *Ruditapes philippinarum*, in the Mediterranean. *Scientia Marina* 60: 283-288.
- Santmarti M.M., García-Valero J., Montes J., Pech A., Durfort M. 1995. Seguimiento del protozoo *Perkinsus* sp. en las poblaciones de *Tapes decussatus* del delta del Ebro. *Actas del V Congreso Nacional de Acuicultura*. F. Castelló & A Calderer (eds), pp: 260-265, S. Carlos de la Rápita. Universidad de Barcelona.
- Sun J., Wu X. 2004. Histology, ultrastructure, and morphogenesis of a *rickettsia*-like organism causing disease in the oyster, *Crassostrea ariakensis* Gould. *Journal of Invertebrate Pathology* 86: 77- 86.
- Villalba A., Mourelle S.G., Carballal M.J., López M.C. 1993. Effects of infection by the protistan parasite *Marteilia refringens* on the reproduction of cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* in Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms* 17: 205–213.
- Villalba A. 2008. *Workshop for the analysis of the impact of Perkinsosis to the European Shellfish Industry*. Fundación CETMAR. Centro de Investigacions Marinas, Conselleria de Pesca e Asuntos Maritimos da Xunta de Galicia. Centro Tecnológico del Mar 1-163.
- Webb S. 2008. Health status of greens hell mussels. Magazine New Zealand aquaculture. Developing sustainable Pacific aquaculture. March/April 2008. 11 pp.
- Webb S., Fidler A., Renault T. 2007. Primers for PCR-based detection of ostreid herpes virus-1 (OsHV-1): application in a survey of New Zealand molluscs. *Aquaculture* 272: 126–139.
- Wilson I.G. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl. Environ. Microbiology* 63: 3741–3751.

Perfil electroforético de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares de la corvina (*Argyrosomus regius*) sometida a diferentes frecuencias de alimentación

Suárez¹ M.D., García-Mesa² S., Sáez¹ M.I., Rodríguez-Rúa³ A., García-Gallego² M., Martínez¹ T., Cárdenas³ S.

¹Departamento de Biología Aplicada. Universidad de Almería. Almería. España.

²Departamento de Zoología. Universidad de Granada. Granada. España.

³Departamento de Producción. IFAPA Centro *El Toruño*. Puerto de Santa María. Cádiz. dsuarez@ual.es.

RESUMEN

Se ha estudiado la influencia de variaciones en la frecuencia de alimentación sobre el patrón electroforético de las proteínas musculares de la corvina. Se han utilizado juveniles de corvina de 170 g cultivadas en las instalaciones del IFAPA Centro *El Toruño* (Puerto de Santa María, Cádiz), distribuidas en 8 tanques (dos por cada frecuencia alimentaria) durante un periodo experimental de 90 días. Las cuatro frecuencias alimentarias ensayadas fueron 7, 6 y 5 días a la semana por la mañana y 5 días a la semana por la tarde con un 0.7 % diario del peso corporal. Después del sacrificio, los peces se almacenaron en cámara fría a 4 °C. Para el estudio de la evolución *post-mortem* se tomaron muestras de la parte delantera dorsal del filete de 6 corvinas a las 24, 48, 72 y 144 horas después del sacrificio, las muestras se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C para su posterior liofilización. Sobre las muestras liofilizadas se realizó la extracción y cuantificación de proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares, determinación de los aminoácidos libres y monitorización de las proteínas por SDS-PAGE. La disminución de la frecuencia de alimentación semanal ha provocado un aumento en el contenido de proteínas sarcoplásmicas y de aminoácidos libres, y una disminución simultánea en el contenido de proteínas miofibrilares en el músculo de

las corvinas a las 24 horas post mortem (hpm). Estas modificaciones han sido poco intensas y no significativas, sin embargo, pueden interpretarse como que dichas condiciones han aumentado ligeramente la susceptibilidad del músculo a la proteólisis. El patrón electroforético de las proteínas sarcoplásmicas no se ha visto modificado por la frecuencia alimentaria ni por el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, estos dos factores han tenido una influencia importante sobre el de las proteínas miofibrilares. El principal cambio durante el almacenamiento ha sido la aparición de una banda de 30 kD a las 144 hpm que ha coincidido con la disminución significativa de la densidad óptica relativa de la banda de 35 kDa.

PALABRAS CLAVE

Argyrosomus regius, corvina, frecuencia de alimentación, proteínas musculares, SDS PAGE.

INTRODUCCIÓN

El ablandamiento de la carne es uno de los principales síntomas en que se manifiesta la pérdida de frescura y, por tanto, de calidad de los peces cultivados. Las causas de este rápido ablandamiento no son del todo conocidas aunque diferentes investigaciones apuntan hacia varios factores estructurales del músculo del pez. Estos cambios están caracterizados por reacciones bioquímicas y modificaciones autolíticas en los componentes musculares, y con gran importancia sobre la calidad final del pescado. Elevado número de estudios demuestran que los cambios texturales ocurridos en el músculo del pescado durante el almacenamiento *post-mortem* son resultado de la degradación de los componentes miofibrilares por proteólisis (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006).

Los fragmentos proteicos liberados como consecuencia de la proteólisis pueden ser utilizados como marcadores de la desorganización en el músculo de pescado. El tipo de fragmento proteico liberado es dependiente del tiempo y de la temperatura, pero el índice de liberación es dependiente de la especie (Papa *et al.*, 1996). La utilización de técnicas bioquímicas y electroforéticas (SDS-PAGE) para estudiar los cambios cualitativos y cuantitativos en las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares del músculo post-mortem de corvinas nos daría mucha información sobre las características de calidad del músculo en esta especie.

Existen muy pocos estudios sobre el crecimiento de peces alimentados bajo diferentes

frecuencias de alimentación semanal. Hasta la fecha no hay ningún trabajo que contemple este aspecto en corvina. Es, por tanto, de interés la realización de este tipo de estudios que nos hagan ser capaces de determinar nuevas estrategias de alimentación con el objetivo de reducir costes de producción y la optimización del alimento suministrado, así como mejorar la calidad del producto.

El objetivo del presente trabajo es el estudio de la influencia de variaciones en la frecuencia de alimentación sobre el patrón electroforético de las proteínas musculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de nuestros ensayos se han utilizado juveniles de corvina de un peso aproximado de 170 g cultivadas en las instalaciones del IFAPA Centro *El Toruño* (Puerto de Santa María, Cádiz). Los ejemplares se distribuyeron en 8 tanques de 4 m³ (40 peces por tanque) y se mantuvieron durante un periodo experimental de 90 días con un suministro de agua previamente filtrada y aireada con una temperatura de $22,3 \pm 0,1$ °C.

Los peces se alimentaron usando dispensadores automáticos de alimento. Se ensayaron cuatro regímenes alimenticios (en tanques duplicados), 7, 6 y 5 días a la semana por la mañana (el dispensador se conectó a las 9:00) (lotes 7M, 6M (no comían los domingos), y 5M (no comían ni sábados ni domingos)) y 5 días a la semana por la tarde (el dispensador se conectó a las 14:00) (lote 5T). Todos los lotes fueron alimentados con una ración semanal similar basada en el 0,7 % diario del peso corporal.

Después del sacrificio, los peces fueron envasados en cajas de polipropileno, recubiertos con hielo y transportados al Laboratorio de Producción Animal de la Universidad de Almería para la realización de los análisis pertinentes. Los peces se almacenaron en cámara fría a 4 °C, envueltos en papel de aluminio. Para el estudio de la evolución *post-mortem* se tomaron muestras de la parte delantera dorsal del filete de 6 corvinas a las 24, 48, 72 y 144 horas después del sacrificio, que se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C para su posterior liofilización. Sobre las muestras liofilizadas se realizó:

- ❖ Extracción y cuantificación de proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares;
- ❖ Determinación de los aminoácidos libres;
- ❖ Monitorización de las proteínas por SDS-PAGE.

El efecto de cada tratamiento sobre los valores individuales se evaluó mediante el análisis de la varianza ANOVA de una vía seguido de comparación de las medias mediante el procedimiento de Tukey (LSD).

RESULTADOS

En la tabla I se muestra la evolución *post-mortem* del contenido de diferentes tipos de proteínas musculares de las corvinas con distintas frecuencias de alimentación. Los resultados obtenidos no han mostrado influencia significativa ni de las diferentes frecuencias alimentarias ni del tiempo de almacenamiento.

Se ha podido observar una tendencia a aumentar las PSP al disminuir los días de alimentación aunque esas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por su parte, las PMF han mostrado una tendencia opuesta, siendo inferiores en peces que se alimentan 5 días a la semana frente a los alimentados 6 y 7 días.

Tabla I.- Influencia del tamaño de la ración sobre el contenido en proteínas totales (PT), sarcoplásmicas (PSP) y miofibrilares (PMF) y aminoácidos (AAS) (mg/g de músculo seco) a diferentes tiempos después del sacrificio (valores medios \pm SEM, n=6)

	Horas <i>post-mortem</i>	7M	6M	5M	5T
PSP	24	22,57 \pm 2,87	27,53 \pm 4,51	28,96 \pm 4,40	25,23 \pm 4,15
	144	24,53 \pm 2,05	27,35 \pm 3,08	29,66 \pm 2,59	28,18 \pm 2,00
PMF	24	74,06 \pm 7,39	74,09 \pm 7,13	68,02 \pm 7,72	68,31 \pm 2,93
	144	71,64 \pm 11,49	71,80 \pm 4,05	69,91 \pm 6,54	61,55 \pm 6,69
PT	24	96,62 \pm 8,71	101,62 \pm 7,87	96,98 \pm 5,68	93,54 \pm 1,25
	144	96,16 \pm 10,76	99,16 \pm 6,71	99,57 \pm 5,76	89,73 \pm 7,74
AAS	24	25,52 \pm 4,08	28,39 \pm 5,93	26,03 \pm 5,72	26,89 \pm 6,09
	144	26,30 \pm 3,41	24,45 \pm 4,02	31,51 \pm 5,73	25,44 \pm 3,95

7M: 7 días/semana por la mañana; 6M: días/semana por la mañana; 5M: 5 días/semana por la mañana; 5T: 5 días/semana por la tarde. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) debidas a las frecuencias de alimentación ni al tiempo de almacenamiento.

A partir de los extractos de proteínas sarcoplásmicas, tras la separación electroforética se han obtenido 12 bandas principales, cuando se comparan con el patrón se han identificado con proteínas de pesos moleculares relativos de 97, 58, 50, 45, 43, 40, 38, 36, 28, 26, 24 y 16 kDa.

La figura 1 muestra la separación en geles SDS-PAGE de las fracciones proteicas de los extractos de las proteínas sarcoplásmicas del músculo de la corvina. La densidad óptica relativa de las distintas bandas (expresada en % sobre la densidad óptica relativa total de cada carril, DOR) se muestra en la tabla II.

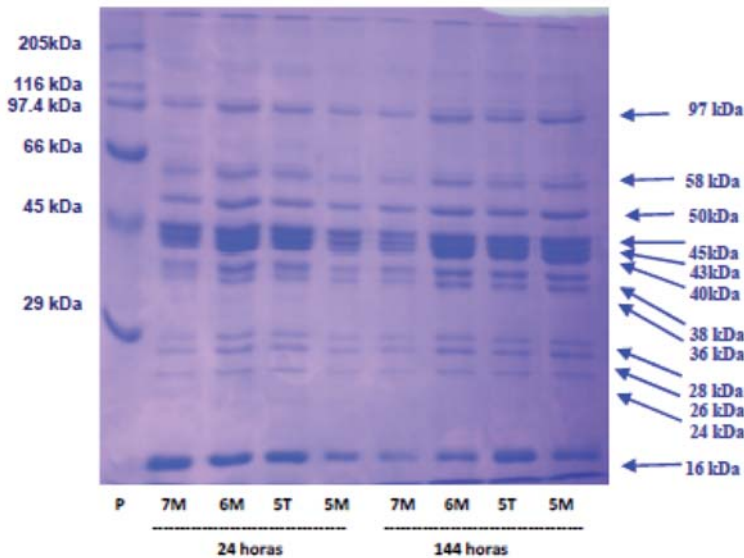


Figura 1.- Patrón electroforético de las proteínas sarcoplásmicas del músculo corvinas alimentadas con diferentes frecuencias de alimentación a las 24 y 144 horas.

El análisis estadístico de los datos muestra que los valores obtenidos no se han afectado de forma significativa por las diferentes frecuencias alimentarias y la mayoría de las bandas se mantuvieron casi sin cambios durante el almacenamiento, solamente se han observado diferencias estadísticamente significativas en las banda B-43 que ha disminuido para todas las frecuencias alimentarias entre las 24 y 144 horas y la banda B-36 que experimenta un cambio contrario en los tratamientos 7M y 6M.

Tabla II.- Valores medios (\pm SD, n=6) de la densidad óptica relativa de cada banda expresada en % sobre el total de la densidad óptica de las proteínas sarcoplásmicas para los diferentes niveles dietarios y tiempos de almacenamiento.

Horas post-mortem	Fracciones proteicas	7M	6M	5M	5T
24	B-96	5,19 \pm 0,39	5,13 \pm 0,81	4,71 \pm 0,90	5,06 \pm 1,32
	B-58	5,04 \pm 0,83	5,45 \pm 0,75	5,54 \pm 0,22	5,82 \pm 0,45
	B-50	6,07 \pm 0,76	5,47 \pm 1,19	5,86 \pm 0,60	6,15 \pm 0,66
	B-45	11,86 \pm 0,47	12,32 \pm 0,88	11,95 \pm 0,61	11,77 \pm 0,69
	B-43	23,51 \pm 0,75	23,61 \pm 0,86	24,28 \pm 1,13	23,85 \pm 0,73
	B-40	11,46 \pm 0,31	11,53 \pm 0,84	10,60 \pm 1,73	10,67 \pm 0,43
	B-38	7,78 \pm 0,79	7,29 \pm 0,89	7,47 \pm 1,03	6,52 \pm 1,26
	B-36	5,88 \pm 1,18	5,83 \pm 0,37	6,70 \pm 2,05	6,67 \pm 1,07
	B-28	3,32 \pm 0,20	3,87 \pm 0,66	3,92 \pm 0,58	4,04 \pm 0,90
	B-26	3,40 \pm 0,88	3,31 \pm 0,75	3,18 \pm 0,59	3,88 \pm 0,74
	B-24	3,00 \pm 0,64	2,72 \pm 0,83	2,88 \pm 0,41	2,68 \pm 0,23
B-16	13,68 \pm 0,78	14,08 \pm 0,36	12,83 \pm 0,92	13,39 \pm 0,60	
144	B-96	5,01 \pm 0,52	4,35 \pm 0,89	4,68 \pm 0,50	4,63 \pm 0,55
	B-58	5,65 \pm 1,11	5,34 \pm 1,32	5,78 \pm 1,04	5,09 \pm 0,93
	B-50	5,36* \pm 0,96	5,89 \pm 0,45	4,89 \pm 1,01	5,24 \pm 1,17
	B-45	11,18 \pm 0,33	12,18 \pm 1,42	11,76 \pm 0,59	12,76 \pm 1,18
	B-43	22,38 \pm 1,18	22,41 \pm 1,98	22,83* \pm 0,30	22,08* \pm 0,55
	B-40	11,81 \pm 0,37	10,79 \pm 0,94	11,33 \pm 0,65	11,04 \pm 0,78
	B-38	6,65 \pm 0,36	6,72 \pm 1,54	6,92 \pm 0,40	6,93 \pm 1,11
	B-36	6,94* \pm 0,54	6,61* \pm 0,30	6,59 \pm 0,49	6,93 \pm 1,03
	B-28	4,94 \pm 0,97	5,57 \pm 0,31	4,91 \pm 0,59	5,07 \pm 0,58
	B-26	4,09 \pm 0,91	4,67 \pm 0,71	3,82 \pm 0,36	4,20 \pm 0,96
	B-24	2,67 \pm 0,99	3,21 \pm 0,27	3,03 \pm 0,36	3,00 \pm 0,63
B-16	13,01 \pm 0,58	12,61 \pm 1,29	13,40 \pm 0,51	13,27 \pm 1,11	

7M: 7 días/semana por la mañana; 6M: días/semana por la mañana; 5M: 5 días/semana por la mañana; 5T: 5 días/semana por la tarde. *Muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) debidas al tiempo de almacenamiento. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) debidas a las frecuencias de alimentación.

En la figura 2 se muestran las fracciones obtenidas tras la separación electroforética de las proteínas miofibrilares, así como la cuantificación de su densidad óptica relativa (Tabla III). Se han observado diversas bandas, entre las cuáles se identifican, según la literatura consultada, como cadena pesada de Miosina (200kDa), Proteína C (146 kDa), Actina (45 kDa), Troponina-T (38 kDa), banda de 35 kDa y péptido de 30 kDa, que ha aparecido solo en los extractos realizados a las 144 hpm.

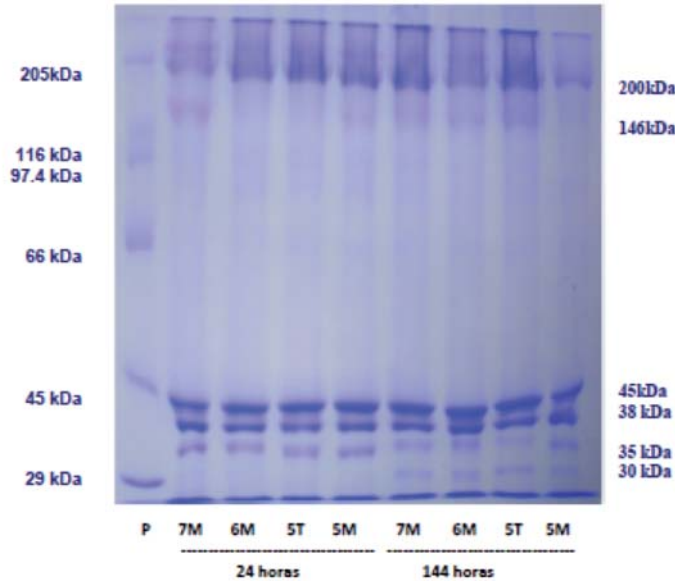


Figura 2.- Patrón electroforético de las proteínas miofibrilares del músculo de corvinas alimentadas con diferentes frecuencias de alimentación a las 24 y 144 horas.

El análisis de los datos muestra que el tiempo de almacenamiento ha provocado una disminución significativa sobre la DOR de la banda de Miosina en las corvinas 5T y un aumento de las bandas de Proteína C y Actina para las 5M y para las 5T. La banda de 35 kDa ha disminuido drásticamente en todas las frecuencias alimentarias, apareciendo la banda de 30 kDa que no se observó a las 24 hpm.

A las 24 hpm se ha observado un aumento significativo de la banda de Miosina y una disminución de la de Actina en los peces alimentados 5 días a la semana por la tarde (5T). La banda de la Proteína C ha disminuido en los lotes 5M y 5T frente a 7M y 6M. La Troponina-T ha aumentado en los peces 5M con respecto a los demás mientras que en la banda de 35 kDa ha ocurrido una disminución en estos peces.

A las 144 horas de almacenamiento se han observado tendencias diferentes a las de 24 horas, disminuyendo las bandas de Miosina y de 30 kDa en las corvinas 5T y aumentando la Proteína C y la banda de 35 kDa en los tratamientos 6M, 5M y 5T frente a las corvinas alimentadas 7 días a la semana.

Tabla III.- Valores medios (\pm SEM, n=6) de la densidad óptica relativa de cada banda expresada en % sobre el total de la densidad óptica de las proteínas miofibrilares para los diferentes niveles dietarios y tiempos de almacenamiento.

Horas post-mortem	Fracciones proteicas	7M	6M	5M	5T	P FA
24	200 kDa¹	37,74 ^a \pm 0,68	37,51 ^a \pm 1,46	37,13 ^a \pm 0,18	39,32 ^b \pm 0,42	0,0179
	146 kDa²	1,91 ^b \pm 0,60	2,61 ^c \pm 0,34	1,17 ^a \pm 0,23	1,61 ^{ab} \pm 0,52	0,0015
	45 kDa³	31,35 ^b \pm 1,32	30,15 ^{ab} \pm 1,68	30,71 ^b \pm 0,29	28,74 ^a \pm 0,55	0,0354
	38 kDa⁴	26,34 ^a \pm 0,66	27,27 ^a \pm 0,85	29,01 ^b \pm 0,58	27,38 ^a \pm 0,76	0,0019
	35 kDa	3,06 ^b \pm 0,42	2,71 ^{ab} \pm 0,25	2,44 ^a \pm 0,32	3,26 ^b \pm 0,51	0,0473
	30 kDa	-	-	-	-	
144	200 kDa¹	37,79 ^b \pm 0,75	37,2 ^b \pm 2,88	37,02 ^{ab} \pm 0,66	35,07 ^{*a} \pm 0,82	0,0567
	146 kDa²	1,82 ^a \pm 0,23	2,42 ^b \pm 0,16	3,09 ^{*c} \pm 0,63	2,66 ^{*bc} \pm 0,19	0,0013
	45 kDa³	30,58 \pm 0,22	28,80 \pm 0,77	27,90 ^{*\pm} 0,99	30,23 ^{*\pm} 0,91	0,0944
	38 kDa⁴	27,25 ^{*a} \pm 0,39	28,93 ^b \pm 1,98	28,73 ^b \pm 0,38	28,91 ^{*b} \pm 0,71	0,5006
	35 kDa	0,64 ^{*a} \pm 0,10	0,84 ^{*b} \pm 0,21	1,61 ^{*b} \pm 0,41	1,74 ^{*b} \pm 0,27	0,0001
	30 kDa	2,08 ^{*a} \pm 0,06	1,79 ^{*a} \pm 0,45	1,65 ^{*b} \pm 0,70	1,52 ^{*b} \pm 0,70	0,0000

7M: 7 días/semana por la mañana; 6M: días/semana por la mañana; 5M: 5 días/semana por la mañana; 5T: 5 días/semana por la tarde.

¹200 kDa: Cadena Pesada de Miosina; ²146 kDa: Proteína C; ³45 kDa: Actina; ⁴38 kDa: Troponina-T.

^{a,b}. Muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) debidas a las frecuencias alimentarias;

*Muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) debidas al tiempo de almacenamiento.

FA: frecuencia alimentaria; hpm: horas post-mortem.

DISCUSIÓN

La disminución de la frecuencia de alimentación semanal ha provocado un aumento en el contenido de proteínas solubles (PSP) y de aminoácidos libres, y una disminución simultánea en el contenido de PMF en el músculo de las corvinas a las 24 hpm. Estas modificaciones han sido poco intensas sin embargo, pueden interpretarse como que dichas condiciones han aumentado la susceptibilidad del músculo a la proteólisis. Estudios similares realizados en otras especies de peces sí observan una disminución en el contenido de proteínas sarcoplásmicas cuando se disminuye el aporte dietario como el salmón (Einen *et al.*, 1999) o el bacalao (Beaulieu y Guderley, 1998), si bien este consumo ocurre en periodos largos de ayuno.

El patrón electroforético de las proteínas sarcoplásmicas no se ha visto modificado por la frecuencia alimentaria. Tampoco se ha producido una hidrólisis importante de estas proteínas durante el tiempo de almacenamiento, que solamente ha influido sobre las fracciones proteicas B-43 y B-28, indicando una gran estabilidad de las proteínas sarcoplásmicas en la corvina. En el músculo de cerdo sí se ha observado una degradación tanto de las proteínas estructurales como metabólicas (Lametsch *et al.*, 2002). Estos autores establecieron que la hidrólisis de proteínas metabólicas no influye directamente sobre la textura de la carne, pero que los péptidos resultantes de la hidrólisis podrían ser marcadores de proteólisis y, por lo tanto índices con posible utilidad en el estudio de los fenómenos bioquímicos que tienen lugar durante la maduración del músculo hacia carne y, por extensión, indicadores de calidad de la carne. El papel que juegan estas enzimas en el metabolismo *post-mortem* no está aun suficientemente estudiado, y menos aún en el músculo de la corvina, pero sería de gran interés profundizar en este estudio.

Con respecto a las proteínas miofibrilares, hemos observado una serie de bandas similar a la obtenida en el músculo de otras especies similares como la lubina. En dicha especie se han descrito 8 bandas principales dentro de esta fracción proteica (Chéret *et al.*, 2006), dos más de las que observadas por nosotros en corvina: α -Actinina (100 kDa) y Desmina (55 kDa). También Michalczyk y Surowka (2007) identificaron en trucha, además de las observadas en nuestro experimento, otras fracciones con masas moleculares de 180 kDa (proteína M); 102 y 107 kDa (α -Actinina); 39,5 kDa (β -Tropomiosina); 35,6 kDa (α -Tropomiosina); y una serie de bandas desde 35 a 17,6 kDa que identificaron con la cadena ligera de Miosina. Las dos bandas ausentes en nuestros geles, α -Actinina (100 kDa) y Desmina (55 kDa), se han encontrado también en dorada (Suárez *et al.*, 2009 y 2010) y en dentón (Suárez *et al.*, 2009).

El principal cambio en el patrón electroforético de las PMF durante el almacenamiento ha sido la aparición de una banda de 30 kDa a las 144 hpm que ha coincidido con la disminución

significativa de la DOR de la banda de 35 kDa. Los valores observados para la banda de 30 kD han sido superiores en corvinas 7M y 6M y estadísticamente inferiores en corvinas 5T, mostrando las 5M un valor intermedio. Estas diferencias han ocurrido a la inversa en la banda de 35 kD, que ha disminuido en mayor medida en los peces 7M, seguidos de los 6M. También se ha observado una disminución significativa de la banda de Miosina en las corvinas 6M y 5M y de la Proteína C en 6M y un aumento de la misma en 5T y 5M.

La causa del aumento observado en la banda de Proteína C en las corvinas 5M y 5T si podría estar relacionada con la menor ingesta de alimento; estudios realizados en cabritos mostraron una importante degradación de la proteína C y α -Actinina cuando se sometieron a restricción alimentaria (Almeida *et al.*, 2004).

En nuestro experimento, a las 24 hpm no se ha podido apreciar la banda de desmina y a las 144 hpm no se han observado cambios en la troponina T frente a los valores observados a las 24 hpm, ambas circunstancias podrían ser debidas a la degradación de estos componentes con anterioridad a la realización de los análisis. Sin embargo, la aparición del péptido de 30 kDa a los 6 días de almacenamiento indica la proteólisis de componentes musculares con posterioridad a las 24 hpm.

CONCLUSIONES

El patrón electroforético de las proteínas sarcoplásmicas no se ha visto modificado por la frecuencia alimentaria ni por el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, estos dos factores han tenido una influencia importante sobre el de las proteínas miofibrilares. El principal cambio durante el almacenamiento ha sido la aparición de una banda de 30 kD a las 144 hpm que ha coincidido con la disminución significativa de la DOR de la banda de 35 kDa.

BIBLIOGRAFÍA

- Almeida A.M., Schwalbach L.M.J., de Waal L.H.O., Greyling J.P.C, Cardoso L.A. 2004. Serum amino acid and myofibrillar protein profiles in Boer goat bucks following undernutrition. *Small Ruminant Res.* 55: 141-147.
- Beaulieu M.A., Guderley H. 1998. Changes in qualitative composition of white muscle with nutritional status of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem.*

Physiol. 121:135-141.

- Chéret R., Hernández-Andrés A., Delbarre-Ladrat C., Lamballerie M., Verrez-Bagnis V., 2006. Proteins and proteolytic activity changes during refrigerated storage in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) muscle after high-pressure treatment. *Eur. Food Res. Technol.* 222: 527-535.
- Delbarre-Ladrat A., Chéret R., Taylor R., Verrez-Bagnis, V. 2006. Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46: 409-421.
- Einen O., Mørkøre T., Rørå A.M.B., Thommassen, M.S. 1999. Feed ration prior to slaughter: a potential tool for managing product quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 178: 149-169.
- Lametsch R., Roepstorff R., Bendixen, E. 2002. Identification of protein degradation during post-mortem storage of pig meat. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5508-5512.
- Michalczyk M., Surówka, K. 2007. Changes in protein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gravads during production and storage. *Food Chem.* 104: 1006-1013.
- Papa I., Alvarez C., Verrez-Bagnis V., Fleurence J., Benyamin Y. 1996. Post mortem release of fish white muscle α -actinin as a marker of disorganisation. *J. Sci. Food Agric.* 72: 63-70.
- Suárez M.D., Martínez T.F., Abellán E., Arizcun M., Pérez-Jiménez A., Hidalgo M.C., Cardenete G. 2009. The effects of the diet on flesh quality of farmed dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 288: 106-113.
- Suárez M.D.; Martínez T.F., Sáez M.I., Alférez B., García-Gallego 2009. Changes in muscle properties during post mortem storage of farmed sea bream (*Sparus aurata*). *J. Food Proc. Eng.* 34: 622-946.
- Suárez M.D. Martínez T.F., Sáez M.I., Morales A.E., García-Gallego M. 2010. Effects of dietary restriction on *post-mortem* changes in white muscle of sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 307: 49-55.

Perkinsosis of the commercial black scallop *Chlamys varia* from the Spanish Mediterranean

Aceituno P., Rojas M., Gairin I., Furones D., Carrasco N.

IRTA, Sant Carles de la Ràpita, Ctra. Poblenou Km 5, 43540, Tarragona, Spain.

Catalonia's Aquaculture R&D and innovation Reference Network (XRAq)

noelia.carrasco@irta.cat

ABSTRACT

The black scallop *Chlamys varia* is an important natural resource occurring in Atlantic and Mediterranean coasts. In recent years, shellfish producers have presented interest in farming these species commercially. Because of the role played by diseases in shellfish aquaculture the presence of parasites in *C. varia* from different Spanish Mediterranean locations, where the black scallop cohabite with other important commercial bivalves, was investigated. Detection of parasites was developed by histological techniques and polymerase chain reaction. Two main pathologies were observed in histological sections of *C. varia*: lesions remembering Digestive Epithelial Virosis (DEV) and Perkinsosis. The presence of a *Perkinsus* parasite was corroborated by *Perkinsus* ITS PCR molecular detection. This study presents the first report of a *Perkinsus* specie infecting scallops in European waters, concretely parasitizing the black scallop *C. varia* from the Spanish Mediterranean. Further studies will be needed to better characterize the *Perkinsus* parasite observed and to asses the impact of such parasite in scallops and cohabiting commercial bivalves.

INTRODUCTION

The black scallop *Chlamys varia* is an important natural resource occurring in Atlantic and Mediterranean coasts (Fernández-Moreno *et al.*, 2008). Although scallops are not traditionally cultivated along the Spanish Mediterranean coast, shellfish producers has presented some interest in farming these species commercially (Ramón *et al.*, 2005). For this reason since 1997 in the Malaga coast, the viability of farming the scallops *C. varia* and others species of commercial interest (Campos *et al.*, 2003) has been investigated. Likewise, between 2008 and 2011, JACUMAR (Junta Asesora de Cultivos Marinos) funded a pilot project of multi-trophic culture in Balearics Islands with farm of fish and shellfish of commercial importance as *Mytilus galloprovincialis* and *C. varia*.

One of the main factors to consider when starting a production of a new species is to know their health status and potential pathogens that could affect their development. In relation to this, there is few published information about the pathological condition of the black scallop *C. varia*. Major reported diseases and parasites in scallops that have been associated with mass mortalities and production losses are: presence of *Vibrio pectenicida* in *Pecten maximus* larvae from a hatchery in Argenton, Brittany, France (Lambert, 1998) and *Vibrio natriegens* in *Argopecten irradians* adults of the hatchery in China (McGladdery *et al.*, 2006); Rickettsial-like organisms in scallop *P. maximus* from St. Brieuç, N Brittany, France (LeGall *et al.*, 1988) and Chlamydia-like organisms (Rickettsial), in *A. irradians* adults from a hatchery US, (McGladdery *et al.*, 2006); the Apicomplexan parasite *Margolisiella islandica* infecting Iceland scallop *Chlamys islandica* in Icelandic waters (Kristmundsson *et al.*, 2011); Epibionts, such as the shell boring polychaete, *Polydora websteri* in *Patinopecten yessoensis* from British Columbia, Canada (Bower *et al.*, 1992). Also, *Marteilia* sp. was found in mass mortalities of Calico scallop, *Argopecten gibbus*, off the Atlantic coast of Florida in late 1989-90. However, no further infections of calico scallop have been detected since the original reports (Bower *et al.*, 1994). Another important disease detected in scallops was Perkinsosis, with *Perkinsus qugwadi* in cultured Japanese scallops, *P. yessoensis* from 5 locations along the coast of British Columbia, Canada. Field studies, laboratory experiments, and commercial grow-out operations indicate that high mortalities among Japanese scallops are associated with *P. qugwadi* infection (Bower *et al.*, 1998). Furthermore a *Perkinsus* parasite has been observed, recently, in *C. varia* from Alicante Coast of Spain (Carrasco, unpublished data).

The Perkinsosis is an infection of marine mollusks caused by protistan parasites of the genus *Perkinsus*. *Perkinsus* spp. has been associated to high mortalities in mollusks with

commercial importance in different parts of world (Azevedo, 1989; Andrews, 1996; Perkins, 1996; Burrenson & Ragone, 1996; Sagristà *et al.*, 1996). Due to the importance that *Perkinsus* spp. have in bivalves with commercial interest and the recent observation of a *Perkinsus* parasite in *C. varia* from the Spanish Mediterranean coast the need of further information was evident. Thus, the aim of the present study was to evaluate the presence of parasites in *C. varia* from different Spanish Mediterranean locations where *C. varia* cohabite with other important commercial bivalves.

MATERIALS AND METHODS

SAMPLING

A total of 159 individuals of black scallop *C. varia* from natural beds and cultures were obtained along different zones of Spanish Mediterranean. The samples were collected in December 2011, May 2012 and June 2012, from Santa Pola Bay (Alicante) (n=60), Ebro Delta (Tarragona) (n=52) and Port de Maó (Menorca, Balearic Islands) (n=47), respectively. The scallops were dissected and fixed for histology and molecular analyses in Davison fixative and ethanol 96%, respectively.

HISTOLOGY

The soft bodies of the scallops were processed by standard histological techniques. An approximately 5 mm thick section of tissue containing mantle, gills, gonad, digestive gland, kidney and foot was dissected and fixed in Davison's solution for 24 h. The section was dehydrated in an ethanol series, embedded in paraffin and cut in sliced in thickness to 3 µm. The histological preparation was stained with Harris's haematoxylin and eosin and examined by light microscopy to determine the presence of pathogens.

MOLECULAR DETECTION: DNA ISOLATION, PCR AMPLIFICATION

DNA was isolated from gill and digestive gland tissue from all the studied specimens for further PCR detection of *Perkinsus* sp. DNA extraction was performed using the DNeasy tissue kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions. The internal transcribed spacer region (ITS) fragments were amplified from isolated DNA following Casas *et al.*, 2002,

modified by Elandaloussi *et al.*, 2009. rRNA ITS region was amplified using the PerkITS-85 and PerkITS-750 primers (Casas *et al.*, 2002). PCR reactions were performed in total volume of 40 µl containing 2 µl (50 ng) of genomic DNA, 20 µl of Go Taq polymerase (Promega), 4 µl of each primer (10 µM) and 10 µl of sterilized bidestillated water. The PCR reaction conditions were as follow: an initial denaturation for 4 min at 94°; 35 cycles at 94°C for 1 min, 53°C for 1 min, and 68°C for 3 min; and a final extension at 68°C for 5 min (Elandaloussi *et al.*, 2009). A negative control (no DNA) was included in all PCR reactions. All PCR products were electrophoresed in 1 x TAE buffer and visualized under UV light on a 1,5% agarose gel (w/v) containing ethidium bromide (EtBr).

RESULTS

HISTOLOGICAL OBSERVATIONS

Two main pathologies were observed in histological sections of *C. varia*: Lesions compatible with Digestive Epithelial Virosis (DEV) and Perkinsosis. The tissue alterations of the epithelium of digestive tubules were observed in the most the examined specimens in moderate and high intensity (Fig. 1C). *Perkinsus* sp. was observed with prevalences of 20%, 15% and 4% in specimens from Santa Pola Bay (Alicante), Ebro Delta (Tarragona) and Port de Maó (Menorca, Balearic Islands), respectively (Table I).

Perkinsus sp. were detected mostly in the connective tissue of different organs (digestive gland, gills, mantle and around the gonad). Trophozoites were observed free (Fig. 1A) but mainly in clusters from at least ten individuals (Fig. 1C, D). These trophozoites are large cells with spherical and ovoid shapes, presenting the typical “signet ring” with a large eccentric vacuole that displaces the nucleus to the periphery of the cell. Haemocyte infiltrations were observed around the clusters the trophozoites (Fig. 1C, D). Multicellular stages were also detected inside of a wall-like structure, indicating vegetative multiplication (Fig 1B).

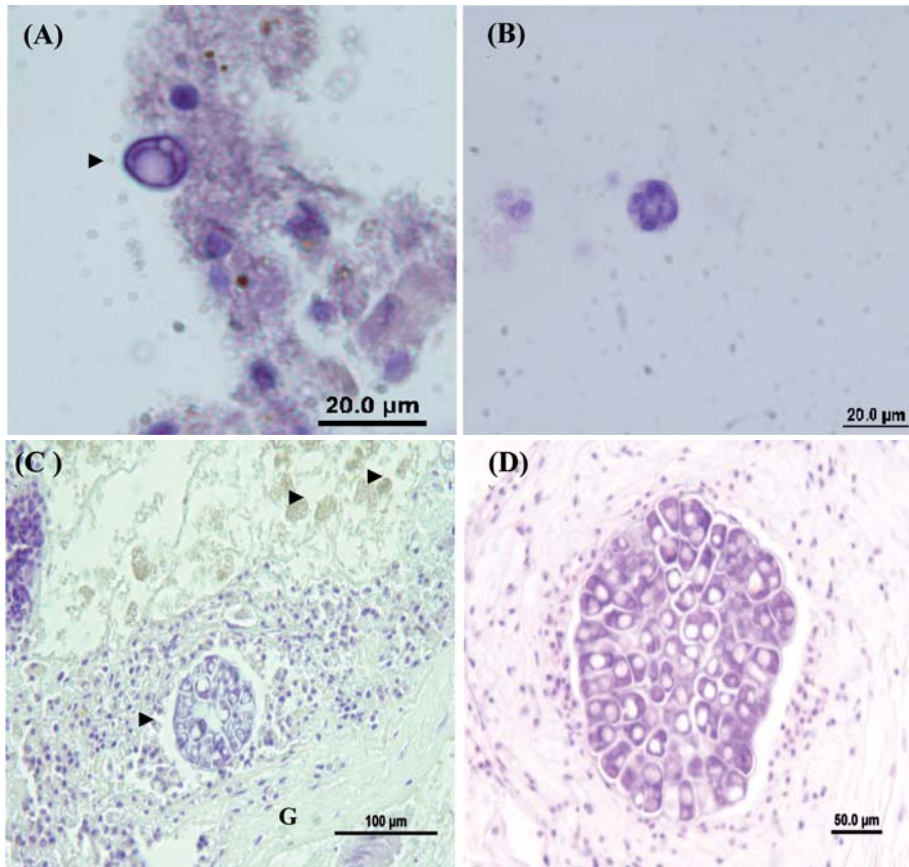


Figure 1.- *C. varia* tissues infected by *Perkinsus* sp and DEV. H&E staining. (A) Mature trophozoite free (arrow) of *Perkinsus* sp. (B) Multicellular stage of *Perkinsus* sp. inside of a wall-like structure. (C) Digestive epithelial virosis lesions (short arrows) in the digestive tubules of black scallop with trophozoites clusters (arrow) infiltrated by haemocytes, showing parasites surrounded by wall-like structure. (D) trophozoites clusters in connective tissue of scallop visceral mass.

PCR DETECTION

A product of the expected size (approximately 600 bp) was obtained using conventional PCR with the PerkITS primers (Casas *et al.*, 2002) of *Perkinsus* sp. (Fig. 2) in 7 of the 159 scallops examined, all from Santa Pola Bay, Alicante (prevalence=12%). However these prevalence values were lower than those detected by histopathology (Table I). Fig. 2 shows

an electrophoregram of the PCR products. The expected bp genus *Perkinsus* sp. bands were observed in all lanes (less G and slightly in F and H) in infected scallops from Santa Pola Bay in December 2011, as were the control DNAs extracted from *P. olseni* (lane 1).

Table I.- Prevalence of *Perkinsus* by histological observations and molecular detection. *Chlamys varia*

Zone	N° specimens	histological observation % Prevalence	+ PCR % prevalence
Santa Pola Bay	60	12 (20%)	7 (12%) Alicante
Menorca	47	7 (15%)	0 (0%) Balearic Islands
Ebro Delta	52	2 (4%)	0 (0%) Catalan Coast
Total	159	21 (13%)	7 (4%)



Figure 2.- *Perkinsus* spp. Agarose gel (1,5%) stained with ethidium bromide and viewed on a UV transilluminator. PCR amplification products obtained with the PerKITS primers (Casas *et al.*, 2002) in reactions with DNA isolated from *P. olseni* (lane 1), negative control (no DNA) (lane 2) and DNA isolated from *Chlamys varia* (lanes A-H). Molecular size marker (100 bp ladder).

DISCUSSION AND CONCLUSION

This is the first pathological study carried out on the commercial black scallop *C. varia* populations from the Spanish Mediterranean. Two main pathologies were detected: Lesions compatible with Digestive Epithelial Virosis (DEV) and Perkinsosis. DEV had been reported previously by Carrasco *et al.*, (2011b) in common cockle *Cerastoderma edule* in the Spanish Mediterranean coast, with high prevalence as in the present study, however, the effect of this pathologies regarding the health status of these bivalves is yet unclear. Therefore, the potential implication of the viral presence and its role in bivalve pathology should be considered and elucidated in further studies.

The present results provide the first report of a *Perkinsus* sp. infecting the black scallop *C. varia* in Spanish Mediterranean and European scallops. In Europe, *Perkinsus*-like organisms have been reported in a large number of molluscan species as, *Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas*, *Tapes decussates*, *Tapes philippinarum*, *Venerupis aurea*, *Venus verrucosa*, *Callista chione*, *Cerastoderma edule*, *Mytilus galloprovincialis*, *Chamelea gallina* and *Musculista senhousia* (Casas *et al.*, 2004). However, in few studies have been identified the species that affect these mollusks. In the Mediterranean sea, have been reported two *Perkinsus* species; *P. mediterraneus* in flat oyster *O. edulis* from the Balearic Islands (Casas *et al.*, 2004) and in clam *V. verrucosa* (Cao *et al.*, 2008), and *P. olseni* in Manila clams from the NW Adriatic Sea, Italy (Abollo *et al.*, 2006), in clams *R. decussates* from Leucate Lagoon, France (Arzul *et al.*, 2010), and in *R. philippinarum* and *R. decussates* collected and cultured in the Ebro Delta, Spain (Elandaloussi *et al.*, 2009; Carrasco *et al.*, 2011a). Furthermore, a new genotype *Perkinsus chesapeakei*-like has been observed recently in clams *R. decussates* from France (Arzul *et al.*, 2010). The characterization of *Perkinsus* sp. detected in *C. varia* has not yet been developed.

To have control of parasitic infections as Perkinsosis, diagnostic techniques are needed to detect and identify pathogens rapidly and reliably. The diagnostic techniques commonly used for the detection of *Perkinsus* spp. are the Ray's fluid thioglycollate culture method (RFTM) assay, conventional histological and molecular detection methods (Villalba *et al.*, 2004). Histological techniques allow observing the external structure of parasite, the most affected organs and tissues, and damage associated with the disease. However, this methodology is unspecific with regard to the identification of species, and in some cases it is difficult detecting pathogens in slight infections or in phases that not involving histological injury (Lopez *et al.*, 2007). Despite this, in the present work the highest prevalence detected in all specimens from the three areas of Spanish Mediterranean was by observations histological.

Currently, molecular techniques such as the polymerase chain reaction (PCR), has revolutionized the diagnosis of infectious diseases in aquaculture because they are faster, and have higher sensitivity and specificity than conventional techniques as histology (Lopez *et al.*, 2007). However, it has been studied that the polymerase chain reaction can be inhibited or enhanced by many different substances arising from the native biological specimens or the method and reagents used to extract the DNA. Wilson (1997) developed a review on inhibitors of Nucleic Acid Amplification, which reported that biological and environmental samples, such as sediments, soil and water contain inhibitors (Humic substances, iron and other minerals) that affecting DNA extraction or subsequent PCR amplification. Also, PCR inhibition has been reported in mollusks, with glycogen being the responsible component (Hill *et al.*, 1991; Atmar *et al.*, 1993; Pecher *et al.*, 2008). In this study, the prevalence of *Perkinsus* sp. in *Chlamys varia*, detected by PCR were lower than histological observations in samples with obvious infections of this parasite. This could be explained by factors that act as inhibitors of PCR as described above.

This study presents the first report of *Perkinsus* sp. parasitizing the black scallop *Chlamys varia* from the Spanish Mediterranean, which represents the first report of a *Perkinsus* sp. affecting scallops in Europe. Although the prevalence of this disease was relatively low in all studied areas (maximum 20% in Santa Pola Bay, Alicante) their potential transmission, dissemination, seasonality and effect in bivalves has to be considered with caution. Therefore, further studies are needed, to assess the real impact of the parasite in scallop populations, as well as in cohabiting commercial bivalves.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a MICINN research project PABIMAR AGL2009-11607 and research was developed at IRTA Institute of Sant Carles de la Ràpita. I thank Dra. Noèlia Carrasco (IRTA) partially contracted by a INIA-CCAA doctors contract and all staff of IRTA-Sant Carles de la Ràpita, especially to Beatriz Lacuesta (MICINN-PTA technical contract), Olga Bellot and Mar Gonzalez for their dedication, knowledge given and help in obtaining and processing samples. Finally, thanks to the researcher Ignasi Gairin (IRTA), as well as to the producers and fishermen Manuel Marhuenda, Manolo Cabrera, Ramón J. Tomás and Àngel Montanyer for help in obtaining *C. varia* samples.

BIBLIOGRAPHY

- Abollo E., Casas S.M., Ceschia G., Villalba A. 2006. Differential diagnosis of *Perkinsus* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. *Molecular and Cellular Probes* 20: 323-329.
- Andrews J.D. 1996. History of *Perkinsus marinus*, a pathogen of oysters in Chesapeake Bay 1950–1984. *J. Shellfish Res.* 15: 13–16.
- Arzul I., Chollet B., Michel J., Robert M., Miossec L., Joly J.P., François C., Garcia C. 2010. *Perkinsus olseni* and a new *Perkinsus* sp., closed to *P. chesapeaki*, sympatric in clams *Ruditapes decussatus* from Leucate lagoon, France. Oral communication, World Aquaculture Society, San Diego, California, March 1-5, 2010.
- Atmar R.L., Metcalf T. G., Neill F. H., Estes M.K. 1993. Detection of enteric viruses in oysters by using the polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:631–635.
- Azevedo C. 1989. Fine structure of *Perkinsus atlanticus* n. sp. (Apicomplexa, Perkinsea) parasite of the clam *Ruditapes decussatus* from Portugal. *J. Parasitol.* 75: 627-635.
- Bower, S.M., Blackbourn J., Meyer G.R., Nishimura D.J.H. 1992. Diseases of cultured Japanese scallops (*Patinopecten yessoensis*) in British Columbia, Canada. *Aquaculture* 107: 201-210.
- Bower, S.M., McGladdery, S.E., Price, I.M. 1994. Synopsis of Infectious Diseases and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: *Marteilia* sp. of Scallops. <http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/science/species-especes/shellfish-coquillages/diseases-maladies/pages/martsc-eng.htm>
- Bower S.M., Blackbourn J., Meyer G.R. 1998. Distribution, prevalence and pathogenicity of the protozoa *Perkinsus qugwadi* in Japanese scallops, *Patinopecten yessoensis*. cultured in British Columbia, Canada. *Can J. Zool.* 76: 954-959
- Burreson E.M., Ragone-Calvo L.M. 1996. Epizootiology of *Perkinsus marinus* disease of oysters in Chesapeake Bay, with emphasis on data since 1985. *J. Shellfish Res.* 15: 17-34.
- Campos, M.J., Cano J. 2003. Preliminary data on the culture of *Chlamys varia* in Fuengirola, Málaga. In: *Proceedings of the 14th International Pectinid Workshop* (April 23-29, 2003. St. Petersburg, USA): 35-36. University of Florida. Florida, USA.
- Cao A., Abollo E., Pardo B.G., Martinez P., Villalba A. 2008. Identification of the *Perkinsus* spp. occurring in the Spanish coast and evaluation of their intraspecific variability. *Journal of Shellfish Research* 27: 994.
- Carrasco N., Elandaloussi L., Escobedo C., Lacuesta B., Fernández J., Rodgers C., Furones

- D., 2011a. Molecular characterization of the *Perkinsus* species infecting the commercial clam *Ruditapes decussatus* on the Catalan Mediterranean coast of Spain. *International Conference of the European Association of Fish Pathologists*. Split (Croatia), 12 - 16 September, 2011.
- Carrasco N., Roque A., Andree K.B., Rodgers C., Lacuesta B., Furones M.D., 2011b. A *Marteilia* parasite and digestive epithelial virosis lesions observed during a common edible cockle *Cerastoderma edule* mortality event in the Spanish Mediterranean coast. *Aquaculture* 321, 197-202.
- Casas S.M., Villalba A., Reece K.S. 2002. Study of perkinsosis in the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). I. Identification of the aetiological agent and in vitro modulation of zoosporulation by temperature and salinity. *Dis. Aquat. Org.* 50,51-65.
- Casas SM., Grau A., Reece KS., Apakupakul K., Azevedo C., Villalba A. 2004. *Perkinsus mediterraneus* n. sp. a protistan parasite of the European flat oyster *Ostrea edulis* from the Balearic Islands, Mediterranean Sea. *Dis. Aquat. Org.* 58:231–244.
- Elandaloussi L.M., Carrasco N., Furones D., Roque A. 2009. Phylogenetic relationship of *Perkinsus olseni* from the Ebro Delta, Spain, to other *Perkinsus* species, based on ribosomal DNA sequences. *Dis. Aquat. Org.* 86: 135-142.
- Fernández-Moreno M., Arias-Pérez A., Freire R. 2008. Genetic analysis of *Aequipecten opercularis* and *Mimachlamys varia* (Bivalvia: Pectinidae) in several Atlantic and Mediterranean localities, revealed by mitochondrial PCR-RFLPs: a preliminary study. *Aquac. Res.* 39: 474–481
- Hill W.E., Keasler S.P, Trucksess M.W. 1991. Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters. *Appl Environ. Microbiol.* 57, 707711.
- Kristmundsson A., Helgason S., Bambir S.H., Eydal M. and Freeman M.A. 2011. *Margolisiella islandica* sp. nov. (Apicomplexa: Eimeridae) infecting Iceland scallop *Chlamys islandica* (Müller, 1776) in Icelandic waters. *J. Invertebr. Pathol.* 108: 139–146.
- Lambert C., Nicolas J.L., Cilia V., Corre S. 1998. *Vibrio pectenicida* sp. nov. a pathogen of scallop (*Pecten maximus*) larvae. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48, 481–487
- LeGall G., Chagot D., Mialhe E., Grizel H. 1988. Branchial rickettsiales-like infection associated with a mass mortality of the sea scallop *Pecten maximus*. *Dis. Aquat. Org.* 4: 229-232.
- López-Flores I., Navas-Triano J.I., Garrido M.A., Ruiz C., Herrán R. 2007. Utilización de marcadores moleculares para el diagnóstico e identificación taxonómica de protozoos parásitos en bivalvos. In: *Genética y Genómica en Acuicultura*. Publicaciones

- científicas y tecnológicas. Fundación Observatorio Español de Acuicultura, Madrid. pp. 797-843.
- McGladdery S.E., Bower S.M., Getchell R.G. 2006. Diseases and parasites of scallops. In: Shumway, S.E., G.J. Parsons (eds.): pp. 595-650. *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Second ed. Elsevier B. V., Amsterdam..
- Pecher W.T., Alavi M.R., Schott E.J., Fernandez-Robledo J.A., Roth L., Berg S.T., Vasta G.R. 2008. Assessment of the Northern Distribution Range of Selected *Perkinsus* Species in Eastern Oysters (*Crassostrea virginica*) and Hard Clams (*Mercenaria mercenaria*) with the Use of PCR-Based Detection Assays. *Journal of Parasitology* 94: 410-422.
- Perkins F.O. 1996. The structure of *Perkinsus marinus* (Mackin, Owen and Collier 1950) Levine, 1978 with comments on taxonomy and phylogeny of *Perkinsus* spp. *J. Shellfish Res.* 15: 67-87.
- Ramón M., Cano J., Peña J.B., Campos M.J. 2005. Current status and perspectives of mollusc (bivalves and gastropods) culture in the Spanish Mediterranean. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 361-373.
- Sagristà E., Durfort M., Azevedo C. 1996. Ultrastructural study of the parasite, *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa), on the clam *Ruditapes philippinarum*, in the Mediterranean. *Sci. Mar.* 60: 283-288.
- Villalba A., Reece K.S. Ordás M.C., Casas S.M., Figueras, A. 2004. Perkinsosis in molluscs: A review. *Aquat. Living Resour.* 17: 411-432
- Wilson I. G.. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:3741-3751.

Producción secundaria y dinámica poblacional de la pepitona *Arca zebra* ubicada en Isla Caribe, costa norte de la Península de Araya, Estado Sucre, Venezuela

Prieto¹ A., Aponte² A., Acosta¹ V., Ruiz¹ L.

¹Departamentode Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela

²Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, UDO., Carupano, Venezuela
 aspa2021@hotmail.com

RESUMEN

La pepitona *Arca zebra* pertenece a la familia Arcidae, en los estados orientales de Venezuela forma bancos densos sobre fondos duros, en aguas someras hasta los 50m de profundidad y es de gran importancia socioeconómicamente. La producción secundaria y aspectos de la dinámica poblacional del bivalvo fueron analizadas en localidades al norte y al sur de isla Caribe, en la costa norte de la península de Araya, en el nororiente de Venezuela, desde agosto 2008 a junio 2009; con el fin de evaluar las variaciones espacio temporales, se realizaron muestreos bimensuales al azar con una cuadrata de 0,25 m² en transeptos paralelos a la línea costa, de 2, 4 y 6 m de profundidad en el sector norte y 2 m en el sur. La producción se evaluó por el método de la tasa específica de crecimiento y la mortalidad total (Z) utilizando la curva de captura linealizada basada en datos de composición de tallas que utiliza la ecuación de von Bertalanffy, convirtiendo la longitud a edad con los parámetros L_{∞} y K. La mortalidad natural (M) se calculó con la ecuación de Hoenig y la mortalidad por pesca (F) según $F=Z-M$. La densidad de organismos, en el norte no mostró diferencias significativas mensuales y a la profundidad. Similar comportamiento se obtuvo en la zona sur al comparar los meses con promedios para este parámetro de 37,76 ind./m² en el norte y 54,40 ind./m² en el sur. La biomasa presentó diferencias significativas entre los meses en las dos zonas, pero no entre las profundidades en el norte, con un promedio de 80,47 g peso seco/ m² y en sur de 97,69 g peso

seco/m². La producción secundaria anual en el norte fue de 188,43 g ps/m²/año y de 319,58 g ps/m²/año, en el sur. La mayor producción se encontró entre los 50-60 mm y 60-70 mm. En la zona sur se obtuvieron los valores más altos para todos los parámetros considerados, lo cual puede ser debido a la ausencia de extracción del recurso en esta parte de la isla.

PALABRAS CLAVE

Caribe, molusco, arcido, *Arca zebra*.

INTRODUCCIÓN

La pepitona *Arca zebra* es un bivalvo perteneciente a la familia Arcidae, que tiene gran importancia pesquera para los estados orientales de Sucre y Nueva Esparta. Dicha especie se encuentra formando densos bancos sobre fondos duros y de cascajos, en aguas someras hasta los 50 metros de profundidad (Lodeiros *et al.*, 1999). Uno de los bancos más extenso es el de Chacopata, el cual cuenta con una superficie de 40-50 millas cuadradas y se ubica al norte del Morro de Chacopata, península de Araya, estado Sucre y la costa este de la isla de Coche (Salaya, 1971).

La estimación de la producción secundaria de una población se realiza a partir de la determinación de la densidad, biomasa, crecimiento en peso seco de la carne (Prieto *et al.*, 2001). Los estudios de los ciclos biológicos, así como de ciertos aspectos de la dinámica de poblaciones son necesarios para proponer normas de explotación para este recurso tan importante para esta zona (Saint- Aubyn *et al.*, 1999).

En el banco de Chacopata y sus alrededores se han realizado algunos trabajos en *A. zebra*, sobre el crecimiento (Prieto & Saint-Aubyn, 1998), producción específica (Saint-Aubyn *et al.*, 1999) aspectos biológicos y pesqueros (Jiménez, 2000), pesquerías (Arias *et al.*, 2002), reproducción y su relación con los factores ambientales (Lista *et al.*, 2006), relación talla peso (Aponte *et al.*, 2008) e índice de condición y madurez sexual (Lista *et al.*, 2008).

A pesar de su abundancia en toda la zona, en el área de isla Caribe no se han realizado prospecciones para evaluar la abundancia y la capacidad potencial de la especie para generar biomasa y solamente se han efectuado investigaciones en el golfo de Cariaco (Prieto *et al.*,

2001). Sin embargo, si se ha estudiado la producción secundaria de otros bivalvos en el oriente del país; entre ellas se incluyen *Modiolus squamosus* (Prieto *et al.*, 1985), *Chione cancellata* (Prieto *et al.*, 1998), *Crassostrea rhizophorae* (Prieto *et al.*, 2008) y *Codakia orbicularis* (Prieto *et al.*, 2009). En este trabajo, se estimó la producción secundaria anual de la especie en dos localidades cercanas a isla Caribe, con base a determinaciones de la densidad poblacional, biomasa y crecimiento en peso del tejido, con la finalidad de evaluar el comportamiento de estos parámetros en el tiempo y en espacio, lo cual constituye un aporte para el conocimiento de la bioecología de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

El estudio fue realizado en las inmediaciones de isla Caribe, la cual se encuentra situada entre la isla de Coche y la península de Araya, estado Sucre. Geográficamente se localiza entre los 10° 41' 18" y 10° 41' 34" de latitud norte y entre los 63° 50' 36" y 63° 51' 16" de longitud oeste.

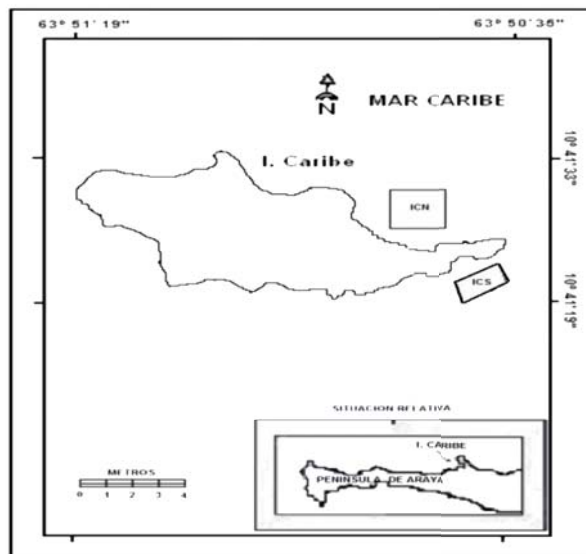


Figura 1.- Mapa de la zona de estudio, indicando las zonas de muestreo.

ESTACIONES DE MUESTREO

Para la realización de este estudio se fijaron dos estaciones de muestreo, una al norte y otra al sur de la isla (Fig. 1). Isla Caribe norte ICN, (10° 41' 29" N y 63° 50' 44" O), se extiende a profundidades que varían de 2 a 8 m. El fondo está compuesto de arena, piedras y cascajos; y el oleaje es de moderada intensidad. Isla Caribe sur ICS, (10° 41' 21" N y los 63° 50' 39" O), tiene una profundidad promedio de 2,5 m en una franja rectangular orientada de noreste a suroeste con un fondo cubierto en su mayoría por praderas de *Thalassia*, y muy poco oleaje.

MÉTODOS

Los bivalvos fueron colectados bimensualmente desde agosto 2008 a junio 2009 en dos estaciones. En ICN se fijaron tres transeptos paralelos a la línea de costa de 100 m de largo situados a 2, 4 y 6 m de profundidad y en ICS debido a la escasa profundidad y uniformidad del sustrato se fijó un transecto paralelo a la línea de costa a 2 m de profundidad. Se seleccionaron 5 puntos al azar sobre los cuales se colocó una cuadrata metálica de 0,25 m², los ejemplares se recolectaron utilizando equipo básico de buceo. Los animales así recolectados fueron colocados en bolsas plásticas y llevados al laboratorio del Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán, donde fueron procesados.

En el laboratorio fueron contados y se les determinó la longitud total (mayor distancia antero posterior) con un vernier digital ($\pm 0,01$ mm), luego el tejido blando de los individuos fue removido, drenado y determinando el peso seco colocando los tejidos en una estufa a 80° C por 48 horas, y pesados en una balanza analítica marca Denver Instrument Co. ($\pm 0,0001$ g).

Las relaciones longitud-peso seco con ceniza se determinaron bimensualmente utilizando la ecuación $P_s = aL^b$; ajustada por el método de los mínimos cuadrados. La significación y el grado de correlación se comprobaron por el método de Hotelling (Sokal & Rolfh 1981). La biomasa fue determinada transformando los valores de longitud total a peso seco mediante las ecuaciones de regresión halladas bimensualmente en cada zona. Los datos de densidad y biomasa fueron transformados a raíz cuadrada para corregir las desviaciones de normalidad y homogeneidad de las varianzas, luego se compararon en relación a la profundidad y el muestreo mediante un análisis de varianza (Sokal & Rolfh 1981).

Las tasas instantáneas de crecimiento en peso se obtuvieron a partir de la ecuación de crecimiento hallada por Prieto & Saunt-Aubyn (1998) en la misma zona, y utilizando la metodología descrita por Crisp (1971). La estructura de tallas bimensual se estudio agrupando a los organismos en intervalos de talla de 10 mm. La producción secundaria fue determinada bimensualmente para cada intervalo de talla utilizando los datos de densidad, biomasa, crecimiento y

tiempo obtenidos en este trabajo, siguiendo la metodología propuesta por Crisp (1971) para poblaciones con reclutamiento y clases de edades no separables; $P \text{ anual} = \sum \sum F_i \cdot G_i \cdot P_i \cdot dt$, donde F_i es la densidad promedio del intervalo de longitud, G_i es la tasa específica de crecimiento en peso seco, P es el peso seco medio de intervalo, y dt es el lapso de tiempo

La mortalidad total (Z) se estimó utilizando la curva de captura linealizada basada en datos de composición de tallas que utiliza la ecuación de von Bertalanffy, convirtiendo la longitud a edad con los parámetros L_{∞} & K (Prieto & Saint-Aubyn, 1998). La mortalidad natural (M) se determinó por la ecuación $\ln(M) = 1,23 - 0,823 \ln(T_{\text{max}})$ estimada para moluscos (Hoenig, 1983), donde T_{max} es la longevidad máxima alcanzada por la especie. La mortalidad por pesca (F) se calculó por la relación $F = Z - M$.

Los datos de temperatura y salinidad fueron tomados en cada muestreo utilizando un termómetro ($\pm 1^\circ \text{C}$) y un refractómetro de mano (CHASE) ($\pm 1 \text{ ‰}$).

RESULTADOS

El total de organismos recolectados en ambas zonas fue de 1 137, correspondiendo 726 a ICN y 411 a ICS. La densidad de organismos en ICN no mostró diferencias significativas con relación a los meses y las profundidades ($F_s = 1,32$; $P > 0,05$; $F_s = 1,19$; $P > 0,05$). Similar comportamiento se obtuvo en ICS al comparar los meses ($F_s = 2,40$; $P > 0,05$). La densidad bimensual varió de 28 a 47,08 ind/m² en ICN y de 37,6 a 81,6 ind/m² en ICS (Fig. 2), los promedios obtenidos para este parámetro fueron de 37,76 ind/m² ICN y 54,40 ind/m² ICS (Tabla I).

Tabla I.- Densidad (D) y biomasa (B) bimensual en ICN y ICS, península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Mes	D ICN (ind/m ²)	D ISCS (ind/m ²)	B ICN (g.p.s/m ²)	B ISCS (g.p.s/m ²)
agosto	35,33	37,60	107,32	109,53
octubre	28,00	41,60	36,60	49,58
diciembre	47,08	58,40	80,78	59,93
febrero	41,43	45,60	59,53	81,38
abril	42,00	81,60	95,06	159,46
junio	30,67	61,60	104,58	126,21

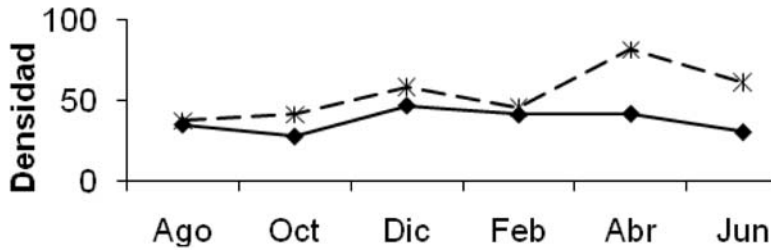


Figura 2.- Variación bimensual de la densidad poblacional (ind/m²) en ICN (◆) y ICS (x), península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Se observaron diferencias significativas de los promedios de biomasa entre los meses en las dos zonas ($F_s=4,43$; $P<0,05$; $F_s=4,17$; $P<0,05$) pero no entre las profundidades en ICN ($F_s= 1,19$; $P>0,05$). La variación bimensual de la biomasa, en ICN fue entre 36,60 g peso seco/m² (octubre) y 107,32 g peso seco/ m² (junio) con un promedio de 80,47 g peso seco/ m². En general se observó que los valores más bajos correspondieron a octubre y febrero y los más altos a agosto y junio. En ICS, la biomasa osciló entre 49,59 g peso seco/ m² (octubre) y 159,46 g peso seco/ m² (abril) para un promedio de 97,69 g peso seco/ m², con una tendencia de los valores muy similar a la observada en ICN (Tabla I) (Fig. 3).

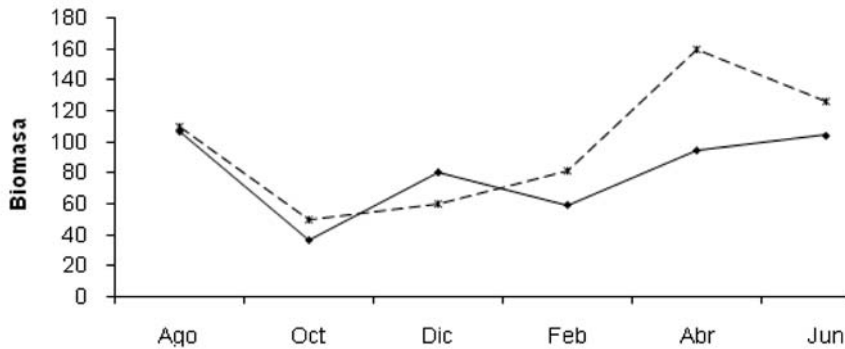


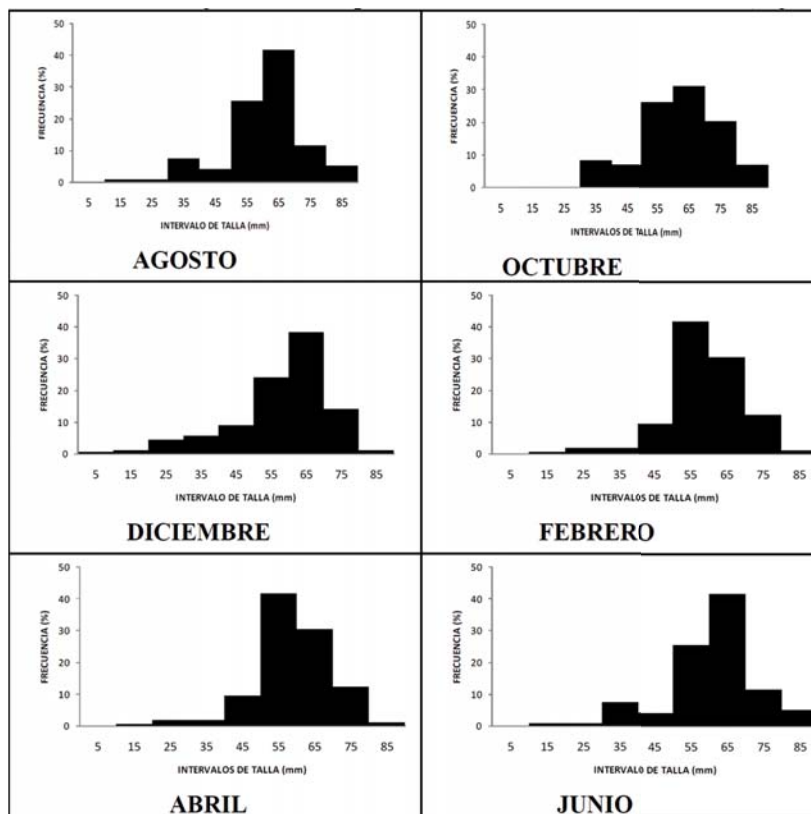
Figura 3.-Variación bimensual de la biomasa (g. peso seco/m²) en ICN (◆) y ICS (x), península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

En ICN de la densidad fue de 32,00 ind/m² (6m) a 43,68 ind/m² (4m) con un promedio de 37,84 ind/m², y la biomasa entre 72,02 y 86,97 g. de peso seco/m² con un promedio de 80,56 g. de peso seco/m² (Tabla II).

Tabla II.- Densidad (D) y biomasa (B) por profundidad en ICN y ICS, península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Prof.	D ICN(ind/m ²)	D ICS(ind/m ²)	B ICN (g.p.s/m ²)	B ICS (g.p.s/m ²)
2 m	37,84	30,25	82,64	83,73
4 m	43,68	40,17	86,97	92,30
6 m.	32,00	38,04	72,06	41,60

En la distribución bimensual de tallas en ICN, el mayor porcentaje de organismos (65,62 %) se encontró en el intervalo 50-70 mm, seguido por el intervalo 70-80 mm con un 15%, detectándose reclutas en los meses de diciembre (0,65%) y abril (1,36%). En octubre fue el único mes donde no se observaron organismos comprendidos en el intervalo 10-20 mm (Fig. 4).

**Figura 4.-** Distribución de tallas en ICN, península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

En ICS la distribución bimensual de tallas resultó semejante a la observada en ICN, aquí con el 70,56 % agrupado en los intervalos 50-60 y 60-70 mm, seguido por el intervalo 40-50 mm (15%). En el intervalo 10-20 mm se hallaron escasos organismos a excepción de octubre y febrero, y no se encontraron en el intervalo 0-10 mm (Fig. 5).

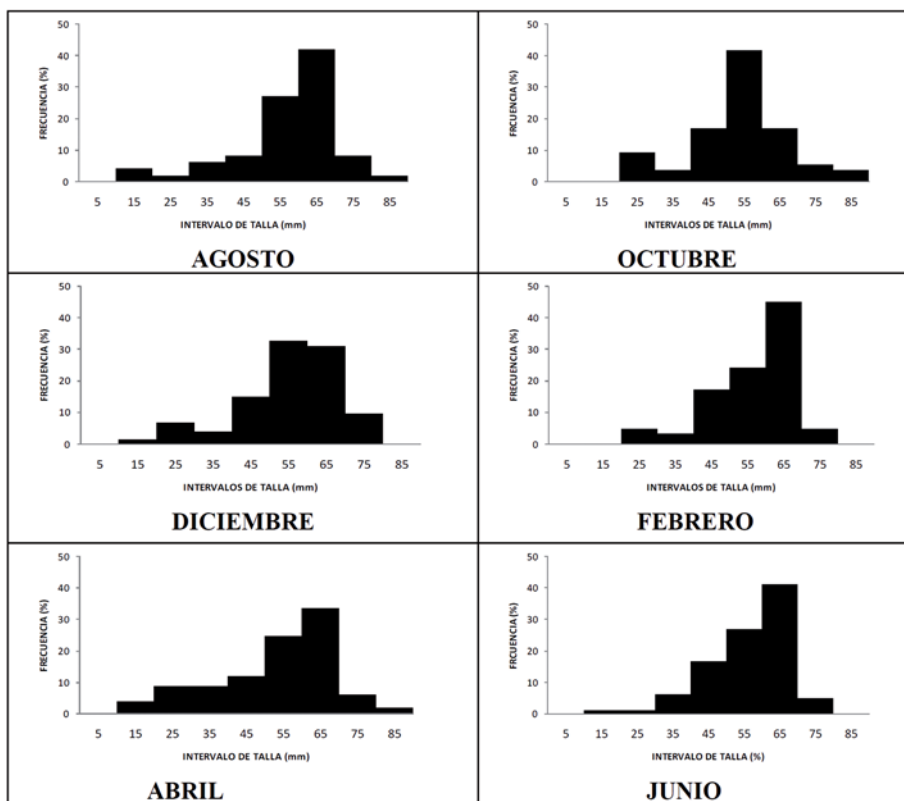


Figura 5.- Distribución de tallas en ICS, península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Las distribuciones tallas elaboradas con los promedios de densidad y biomasa obtenidos en las dos zonas, indican que los más altos correspondieron a los intervalos 50-60 mm y 60-70 mm y los más bajos a los intervalos 0-10 mm y 10-20 mm (Tabla III). La relación talla peso en ambas zonas fueron positivas en todos los meses, con coeficientes de regresión que variaron entre 2,1189 (abril) y 3,1566 (diciembre) en el norte y 1,9201 (agosto) y 3,3507 (febrero) (Tabla IV). La comparación de los coeficientes de regresión obtenidos en el mismo mes en cada zona, presentó diferencias significativas solamente en febrero ($F_s=8,72$; $P<0,05$).

Tabla III.- Densidad (D) y biomasa (B) por clases de tallas en ICN y ICS, península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Tallas (mm)	D ICN (ind/m ²)	D ICS (ind/m ²)	B ICN((g.p.s/m ²)	B ICS((g.p.s/m ²)
0 a 10	0,15	0	0,01	0
10 a 20	0,36	0	0,04	0
20 a 30	1,06	3,20	0,29	0,72
30 a 40	1,74	3,20	0,99	1,69
40 a 50	2,77	7,90	2,83	7,90
50 a 60	11,10	15,90	18,75	27,06
60 a 70	13,64	19,20	34,30	53,30
70 a 80	5,53	3,60	18,63	12,83
80 a 90	1,08	0,70	4,82	2,27

Tabla IV.- Ecuaciones de regresión de la relación talla peso obtenidas bimensualmente en ICN y ICS, península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Mes	ISLA CARIBE NORTE (ICN)					ISLA CARIBE SUR (ICS)				
	b	a	R	n	sig	b	a	r	n	Sig
Agosto	2,26	3,58	0,81	20	0,001	1,92	2,93	0,97	28	0,001
Octubre	2,39	4,20	0,86	20	0,001	2,26	3,88	0,88	20	0,001
Diciembre	3,15	5,39	0,93	20	0,001	2,75	4,85	0,97	20	0,001
Febrero	2,63	4,54	0,97	21	0,001	3,35	5,69	0,97	23	0,001
Abril	2,11	3,41	0,86	20	0,001	2,81	4,66	0,94	18	0,001
Junio	2,27	3,54	0,92	20	0,001	2,87	4,60	0,94	20	0,001

La producción secundaria anual en ICN fue de 188,43 g peso seco/m²/año y de 319,58 g peso seco/m²/año en ICS, en éstas no fue incluida la materia orgánica de la concha, ni la correspondiente a la liberación de los gametos por los individuos (Tabla V). Así mismo, en ICN los

valores más altos se obtuvieron en los intervalos de talla 60 - 70 mm y 50 - 60 mm (Tabla VI), y en los 4 m de profundidad y en ICS correspondió al intervalo 60 a 70 mm la producción más alta, seguido por el intervalo 50 a 60 mm (Tabla VI). La relación producción /biomasa (P/B) de *A. zebra* calculado para todas las tallas fueron de 2,35 año⁻¹ en ICN y 3,27 año⁻¹ en ICS.

Tabla V.- Producción secundaria bimensual y total en ICN e ICS, península de Araya, Venezuela.

Mes	P iscn (g.p.s/m ² /año)	P iscs (g.p.s/m ² /año)
Agosto	34,05	34,68
Octubre	12,95	23,05
Diciembre	44,34	33,51
Febrero	24,63	43,65
Abril	34,55	80,36
Junio	37,90	104,30
Total	188,43	319,58

Tabla VI.- Producción por intervalos de talla en isla Caribe norte (ICN) y sur (ICS), península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

Tallas (mm)	P iscn (g.p.s/m ² /año)	P iscs (g.p.s/m ² /año)
0 a 10	0,13	0
10 a 20	0,76	0
20 a 30	3,50	10,17
30 a 40	7,75	14,87
40 a 50	13,74	44,27
50 a 60	59,72	97,88
60 a 70	75,22	129,84
70 a 80	24,31	19,02
80 a 90	3,32	1,42

El análisis de la mortalidad efectuado por la curva de captura permitió obtener el modelo $\text{Loge } N/\Delta t = 11,25 - 7,98t$, este estimado de Z (7,98) no es confiable para obtener F por ser un valor muy alto. Debido a que no se observó explotación del recurso durante el periodo de muestreo, se decidió estimar F mediante la ecuación $F = \text{capturas}/\text{biomasa}$, con el cual se obtuvo un valor de $F=0,2$. La mortalidad natural estimada por el método de Hoenig (1983) para una longevidad máxima de 3 años fue de $M= 1,38/\text{año}$, siendo la mortalidad total $Z= 1,40/\text{año}$.

En ICN la temperatura promedio fue de 25°C oscilando entre 24°C (diciembre y junio) y 27°C (agosto y octubre) en cuanto a la salinidad, el promedio fue de 36‰ con una variación entre 34‰ (junio) y 37‰ (febrero y abril). En ICS la temperatura promedio fue de 26°C y varió entre $24,2^\circ$ y 29°C , en la misma zona la salinidad promedio fue de $36,6\text{‰}$ con una variación entre 36 y 37‰ . (Figs. 6 y 7).

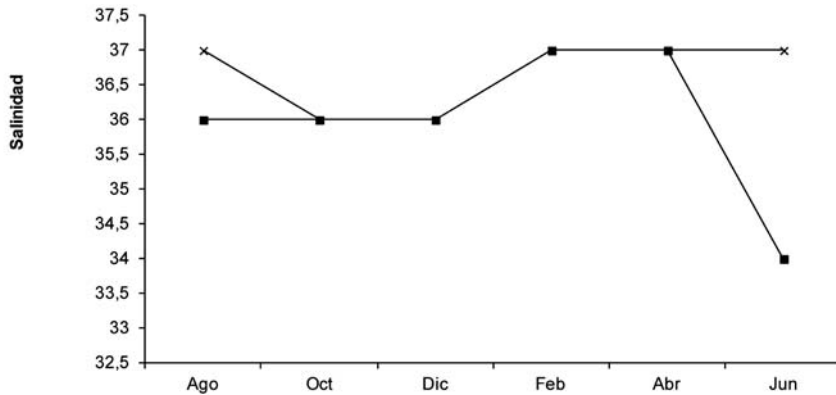


Figura 6.- Variación bimensual de la salinidad (‰) en ICN (◆) y ICS (x), península de Araya, estado Sucre, Venezuela, desde agosto 2008 hasta junio 2009.

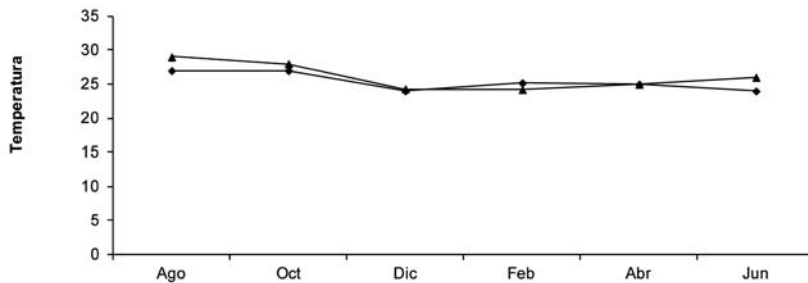


Figura 7.- Variación de la temperatura ($^\circ\text{C}$) en isla Caribe norte (◆) y sur (▲), península de Araya, estado Sucre, Venezuela, agosto 2008- junio 2009.

DISCUSIÓN

La producción secundaria en ambas zonas obtenidas en esta investigación son muy superiores a los reportados en otras poblaciones de bivalvos en el oriente de Venezuela, como *Modiolus squamosus* (Prieto *et al.*, 1985), *Chione cancellata* (Prieto *et al.*, 1998), *Asaphis deflorata* (Prieto *et al.*, 2009), *Codakia orbicularis* (Prieto *et al.*, 2009) que habitan en comunidades de macrofitas y comparable a la estimada en mitilidos de áreas subtropicales como *Perna perna* (Berry, 1978) y tropicales como *Perna viridis* (García *et al.*, 2005) y templados como *Placopecten magellanicus* (MacDonald & Thompson, 1983). Las producciones en ambas áreas siguen las mismas tendencias de la densidad y las biomásas con valores máximos en ICS, probablemente debido a variables fisiográficas y ecológicas de las zonas lo cual permite decir que los balances energéticos de las dos zonas podrían ser diferentes. La relación P/B estimada para ambas zonas es muy superior a la obtenida para la misma especie en Pariche, golfo de Cariaco (1,41 año⁻¹) (Prieto *et al.*, 2001), *Modiolus squamosus* (0,93 año⁻¹) (Prieto *et al.*, 1985) y equivalente a la de *Crassostrea virginica* (2,01 año⁻¹) (Dame 1977), *Mytilus edulis* (2,35 año⁻¹) (Berry, 1978), pero menor a la estimada en *Crassostrea rhizophorae* (3,3 año⁻¹) (Prieto *et al.*, 2009) y otras poblaciones naturales de bivalvos de áreas eutróficas templadas como *Spisula subtruncata* (Degraer *et al.*, 2007) y *Mytilus edulis* (Wilson, 2002).

La disminución brusca de la biomasa observada desde agosto a diciembre 2008 en ambas zonas puede explicarse, entre otros factores, a la pérdida de peso gonadal por desove debido a la disminución de temperatura desde 27° C hasta 25° C y ligeras disminuciones de salinidad, coinciden parcialmente con los señalamientos de Lista *et al.* (2005); quienes indican que en este periodo, aunque existe un ligero aumento del tejido somático transcurre el periodo reproductivo de la especie.

Los aumentos de biomasa observados desde febrero hasta junio coinciden con el periodo de máxima productividad primaria en el oriente de Venezuela, caracterizado por aguas de bajas temperaturas y altos valores de nutrientes, O₂ disuelto, y biomasa fitoplanctónica (Ferraz-Reyes, 1989; Malave & Prieto, 2005). La tasa de mortalidad total estimada es menor a la reportada para otras especies tropicales como *P. imbricata* (Urban, 2000), *Crassostrea rhizophorae* (Prieto *et al.*, 2012) y *T. mactroides* (Tata & Prieto, 1991) que presentan valores superiores al 90%. Los valores de mortalidad natural (1,38) y por pesca (0,2) indicarían que la especie en el área está en condiciones estables. En la zona son muy abundantes los gasterópodos de los géneros *Muxex*, *Cymatium* y *Thais*, así como crustáceos de las especies *Callinectes danae* y *Mennipe nodifrons* que depredan principalmente sobre juveniles del bivalvo.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que en las dos zonas de isla Caribe *Arca zebra* presenta una distribución de tallas similar, sin diferencias significativas en la densidad, aun cuando en ambas áreas se detectaron diferencias significativas mensuales en la biomasa. La producción secundaria en ambas zonas es alta, siendo mayor en el sur, estimándose una mortalidad natural de 1,38/año.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue financiado a través del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente proyecto N° CI-2-031002-1373107, se agradece la colaboración de Abel Velázquez y Carlos Guerra en los muestreos.

BIBLIOGRAFÍA

- Arias A., Jiménez G., Molinet R. 2002. La pesquería de la pepitona, *Arca zebra*, en Chacopata, estado Sucre, Venezuela: un análisis bioeconómico. *Zoot. Trop.* 20 (1):49-67.
- Aponte A., Lemus M. 2008. Relación longitud peso seco de la pepitona *Arca zebra* (Swainson, 1833), procedente de la costa norte de la península de Araya, estado Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela* 47 (1): 59-65
- Berry P. 1978. Reproduction, growth and production in the mussel *Perna perna* (L) on the east coast of South Africa. *S. Afr. Ass. Mar. Ecol. Res. Oceanogr. Res. Inst. Rep.* 48:1-28.
- Crisp D.J. 1971. Energy flow measurements. In “*Methods for the study of marine benthos.*” I.B.P. Handbook N°. 16. Blackwell Scientific Publication, Oxford. 197-279 pp.
- Dame R.F. 1977. The ecological energy of growth, respiration and assimilation in the intertidal American oyster, *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.* 17: 243-250.
- Degraer S., Meire P., Vincx M. 2007. Spatial distribution, dynamics and productivity of *Spisula subtruncata* implications for *Spisula* fisheries in seaduck wintering areas. *Mar. Biol.* 152: 863-875.

- García Y., Prieto A., Marcano J., Lodeiros C., Arrieche D. 2005. Producción secundaria del mejillón verde, *Perna viridis* (L. 1758) en la península de Araya, Venezuela. *Rev. Cient. FCV- LUZ*. 15; 252-262.
- Ferraz- Reyes E 1989. Influencia de los factores físicos en la distribución vertical de la biomasa fitoplanctónica en el Golfo de Cariaco (Venezuela). *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela* 28: 47-56.
- Jiménez R. 2000. Algunos aspectos biológicos y pesqueros de la pepitona en el banco de Chacopata. Seminario sobre evaluación de los estudios biológicos y oceanográficos realizados al norte de Araya, estado Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela* 38 (1):47-49.
- Lodeiros C., Marin B., Prieto A. 1999. Catálogo de moluscos marinos de las costas nororientales de Venezuela: Clase Bivalvia. Ediciones APUDONS, 109 pp.
- Lista M., Lodeiros C., Prieto A., Himmelman J., Castañeda J., Garcia N., Velasquez C. 2006. Relation of the seasonal changes in the mass of the gonad and somatic tissues of the zebra ark shell *Arca zebra* to environmental factors. *J. Shellfish Research* 25 (3): 969-973.
- MacDonald B., Thompson J. 1983. Influence of the temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. II Reproductive output and total production. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 25: 295-303.
- Malavè C., Prieto A. 2005. Producción de biomasa en el mejillón verde *Perna viridis* en una localidad de la Península de Araya, Venezuela. *Interciencia* 30: 699-705.
- Prieto A., Ramos C., Arrieche D. 1998. Producción secundaria de una población de *Chione cancellata* (Bivalvia, Veneridae) en la costa sur del golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 46: 913 - 919.
- Prieto A., Saint-Aubyn M. 1998. Crecimiento del bivalvo *Arca zebra* (Swainson, 1833), en Chacopata, Estado Sucre, Venezuela. *Saber UDO* 10 (2):14-19.
- Prieto A., Ruiz L., Hernández H. 2004. Dinámica energética del crecimiento de una población del mejillón *Modiolus squamosus* en el golfo de Cariaco, Venezuela. *Interciencia* 29:74-79.
- Prieto A., Marcano J., Villegas L., Lodeiros C. 2008. Estructura poblacional de la almeja, *Asaphis deflorata*, en la localidad de Caurantica, golfo de Paria, estado Sucre, Venezuela. *Zoot. Trop.* 26 (1): 55-62.
- Prieto A., Aponte A., Campos I., Barrios A., Prieto Y. 2009. Productividad de una población natural de la almeja *Codakia orbicularis* en una localidad del golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanog. Venezuela* 48 (1): 3-9.
- Prieto A.S., Barrios A., Ruiz L. 2012. Crecimiento y mortalidad del ostión *Crassostrea*

rhizophorae en la Laguna Grande de Obispo, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Bol. Cient. Inv. Biol. LUZ, En Prensa*

Salaya J. 1971. La pesca de la pepitona *Arca zebra* en el oriente de Venezuela. *Informe Tec. MAC*. N° 27: 1-27.

Sokal R., Rohlf F. 1981. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. H. Blume. 2^{da} edición. Madrid, España.

Tata A., Prieto A.S. 1991. Producción secundaria de una población del bivalvo tropical *Tivela mactroides* (Veneridae) en el Oriente de Venezuela. *Caribb. J. Sci.* 21:28-34.

Urban H.J. 2000. Culture potential of the pear oyster (*Pinctada imbricata*) from the Caribbean. I. Gametogenic activity, growth, mortality and production of a natural population. *Aquaculture* 189:361-373.

Wilson J.G. 2002. Productivity, fisheries and aquaculture in temperate estuaries. *Estuar. Coast. and Shelf. Sci.* 55: 953-964.

Régimen de Administración por cuotas individuales transferibles de captura 2010-2011

Bertolotti¹ M.I., Buono¹ J., Pagani² A., Errazti² E., Gualdoni² P.

¹Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero –INIDEP. Paseo Victoria Ocampo N° 1 Escollera Norte, Mar del Plata, Argentina.

²Facultad de Ciencias Económicas y Sociales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3260, Mar del Plata, Argentina.

maricelb@inidep.edu.ar

RESUMEN

La Ley Federal de Pesca N° 24.922 estableció en la República Argentina el Régimen de Cuotas Individuales Transferibles de Captura (CITC) y facultó al Consejo Federal Pesquero (CFP) para reglamentar y dictar las normas necesarias para la administración de los recursos pesqueros mediante el otorgamiento de cuotas de captura por especies, por buque, zonas de pesca y tipo de flota. En noviembre de 2009 mediante el Acta N° 49/2009, el Consejo Federal Pesquero introdujo las definiciones básicas de la política de administración de los recursos pesqueros. Las cuotas de captura son concesiones temporarias, total o parcialmente transferibles y no pueden superar por empresa o grupo empresario un porcentaje que se fija sobre la Captura Máxima Permisible (CMP). El CFP se reserva parte de la CMP como método de conservación y administración, priorizando su asignación hacia sectores de máximo interés social. El objetivo de este trabajo es analizar la efectividad del régimen de explotación en sus dos primeros años de ejecución, a partir de los informes de gestión 2010 y 2011, para las especies cuotas: polaca (*Micromesistius australis*), merluza negra (*Dissostichus eleginoides*), merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) y merluza común (*Merluccius hubbsi*).

En todos los casos analizados, la captura de los buques no excedió la captura asignada por

especie y la captura total no superó la CMP; la reserva de administración y eventualmente la reserva de conservación compensaron con holgura la captura incidental de los buques sin cuota; y se cumplió con el límite aceptable de concentración de cuota sobre la especie analizada. El régimen de administración resultó efectivo al permitir compensaciones a través de las reservas específicas, que permitieron ajustar las distribuciones iniciales de las cuotas por barco y especie. Las características de las cuotas (divisibilidad y transferibilidad total y parcial, definitiva o transitoria), facultaron las compensaciones por transferencia entre buques del mismo grupo empresario y las transferencias parciales y totales entre buques de distintos grupos empresarios, facilitando la organización empresarial y la planificación de las operaciones de pesca.

PALABRAS CLAVE

Administración de recursos, cuotas individuales transferibles, asignación de cuotas.

INTRODUCCIÓN

La Ley Federal de Pesca N° 24.922 estableció en la República Argentina el Régimen de Cuotas Individuales Transferibles de Captura (CITC) y facultó al Consejo Federal Pesquero (CFP) para reglamentar y dictar las normas necesarias para la administración de los recursos pesqueros mediante el otorgamiento de cuotas de captura por especies, por buque, zonas de pesca y tipo de flota. En noviembre de 2009 mediante el Acta N° 49/2009, el Consejo Federal Pesquero introdujo las definiciones básicas de la política de administración de los recursos pesqueros.

Para la administración y gestión se estableció el marco regulatorio que consiste en los siguientes regímenes: Régimen General de Cuotas Individuales Transferibles de Captura (CITC), Régimen específico de CITC para la especie polaca (*Micromesistius australis*), Régimen específico de CITC para la especie merluza negra (*Dissostichus eleginoides*), Régimen específico de CITC para la especie merluza de cola (*Macruronus magellanicus*), Régimen específico de CITC para la especie merluza común (*Merluccius hubbsi*), Régimen de transferencias de CITC y otras medidas complementarias de administración.

La Cuota Individual Transferible de Captura (CITC) es una concesión temporal (15 años)

del Estado a favor del titular de un permiso de pesca, que habilita a la captura de un porcentaje de la Captura Máxima Permisible (CMP) de una especie determinada y cuya magnitud, expresada en toneladas, queda establecida cada año en función de la CMP. Las CITC son divisibles y transferibles, total o parcialmente, en forma definitiva o transitoria.

Anualmente el CFP establece como porcentaje de la CMP, la Reserva de Administración en cada régimen específico para la administración anual de la pesquería; la Reserva de Conservación bajo el criterio precautorio; la Reserva de Cuota Artesanal y la Reserva Social para ser asignada a los sectores de máximo interés social. El Fondo de Reasignación de Cuotas está integrado por la porción de la CMP que no haya sido inicialmente asignada o reservada y las CITC que, por cualquier causa sean recuperadas total o parcialmente por la Administración.

El Régimen de CITC, actas y resoluciones específicas pueden consultarse en la página del CFP, (<http://www.cfp.gob.ar/>)

El objetivo de este trabajo es analizar la efectividad del régimen de explotación en sus dos primeros años de ejecución, a partir de los informes de gestión 2010 y 2011, para las especies cuotificadas: polaca (*Micromesistius australis*), merluza negra (*Dissostichus eleginoides*), merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) y merluza común (*Merluccius hubbsi*).

MÉTODOS

Con el objetivo de evaluar el comportamiento de las capturas efectuadas durante los dos primeros años de funcionamiento del sistema de CITC (2010-2011), para cada especie cuotificada, a partir de los informes de gestión 2010 y 2011, se analizaron los siguientes ítems: Asignación efectuada, máximo de concentración, Reserva de Conservación, Reserva de Administración, Reserva Artesanal, Reserva Social, Fondo de Reasignación, transferencias temporales de cuota, registro de captura anual, cómputos de capturas, compensaciones de oficio entre buques de una misma empresa o grupo empresario y compensaciones a través de la Reserva Social.

Los períodos anuales a los que se refieren las normas de administración mediante CITC se corresponden con el año calendario, teniendo en cuenta que la Captura Máxima Permisible se fija anualmente, y que es la base de cálculo del volumen anual correspondiente a cada CITC.

La evolución de la CITC para cada buque y especie, se examinó partiendo de las

asignaciones iniciales otorgadas en 2009 e incorporando las transferencias definitivas (cedidas o recibidas) realizadas en cada caso, las que fueron aprobadas a través Actas del Consejo Federal Pesquero y Disposiciones de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura de la Nación, conforme a lo establecido en la normativa.

El cumplimiento del régimen de explotación se realizó agrupando la captura por especie, buque, empresa y grupo empresario, y realizando las compensaciones de oficio dispuestas por las normativas respectivas en cada año. Las compensaciones indican una transferencia de CITC realizada de oficio, en las condiciones reglamentarias, por lo cual toda la cuota compensada del cedente se debe computar como explotada. Se excluye el análisis del cumplimiento al Régimen de Explotación ya que en el mismo se establece el incumplimiento durante dos años consecutivos o alternados. A la fecha de este estudio se encuentran en análisis las presentaciones de causales por grupo o empresa.

RESULTADOS

POLACA (*MICROMESISTIUS AUSTRALIS*)



Para los años analizados se consideró un valor de Captura Máxima Permissible (CMP) de 45.000 toneladas, establecido por Resoluciones CFP N° 14/2010 y 18/2010, sobre la base de informes del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero –INIDEP-, (Giussi y Wöhler, 2010a).

La asignación inicial y en 2011 de la CITC de la especie polaca (*Micromesistius australis*) se realizó considerando el 80% de la CMP, y con un 0,68% de sustracción correspondiente al ítem “sanciones” que pasó a integrar la Reserva de Administración.

En la tabla I se presenta un resumen de las asignaciones otorgadas, en porcentaje y en volumen, el volumen capturado y el excedente de captura.

Tabla I.- Asignaciones de CITC y capturas en toneladas 2010-2011 Polaca (*Micromesistius Australis*).

	% CPM	Asignado 2010-11	Captura 2010	Captura 2011	Excedente 2010	Excedente 2011
Asignaciones CITC	79,32	35.694,0	10988,5	3100,3	24705,5	32.593,7
Reserva de Administración	0,68	306,0				
Captura incidental			584	417,6	-278	-111,6
Reserva de Conservación	20,00	9000,0				
Total	100,00	45.000,0	11.572,5	3.517,9	24.427,5	32.482,1

Cuatro grupos empresarios intervinieron en la pesquería con 7 buques iniciales, quedando con cuotas asignadas un total de 6 buques. Se analizó la concentración de porcentajes de CITC de la especie, por empresa o grupo empresario, donde en ningún caso se superó el límite máximo que establece la normativa (40%) (Tabla II). Se registraron dos transferencias definitivas (21,83% de cuota) entre barcos del mismo grupo empresario y una transferencia parcial fuera del grupo (4.000 t).

Tabla II.- Concentración cuotas 2010-2011.

GRUPO ECONOMICO	CITC 2010	CITC 2011
Grupo 1	36,45	36,45
Grupo 2	26,73	26,73
Grupo 3	6,33	15,35
Grupo 4	9,81	0,78

En 2010 reportaron captura incidental 50 buques y 34 durante 2011. El porcentaje asignado a la Reserva de Administración no alcanzó a cubrir la captura incidental de la especie en los dos años analizados, aunque la captura total de la especie fue inferior a la Captura Máxima Permisible (CMP) y la captura de los buques con cuotas asignadas, representó el 30,79% de la CMP en 2010 y el 8,68 en 2011, como se observa en la figura 1. Giussi *et al.* (2011) observaron una tendencia declinante de la biomasa de polaca, principalmente en los últimos años, y dados los valores finales, la situación del recurso resulta preocupante.

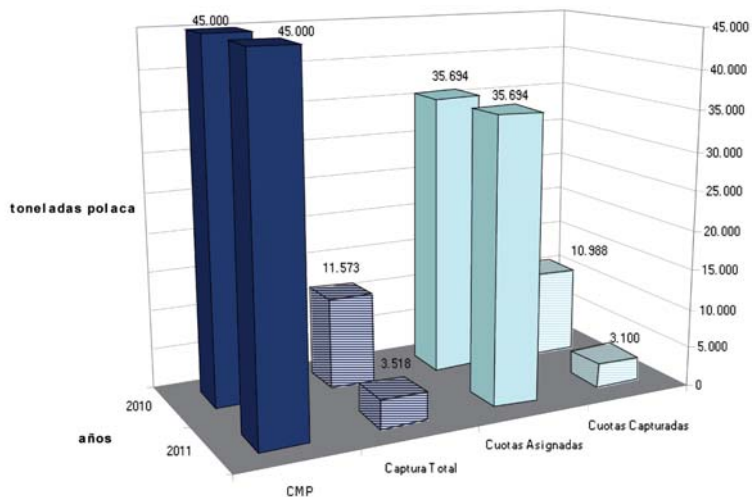


Figura 1.- Captura Máxima Permissible, Asignación de cuotas y Capturas realizadas de Polaca (*Micromesistius australis*), en toneladas.

MERLUZA NEGRA (*DISSOSTICHUS ELEGINOIDES*)



En 2010 se estableció la captura máxima permissible (CMP) en 3.250 t por Resolución CFP N° 10/2010, (Martínez y Wöhler 2010) aumentando en 2011 a 3.500 t, Resolución CFP N° 18/2010

Las asignaciones de CITA de la especie merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) se realizaron considerando el 81,20% de la CMP, y con un 18,80% de sustracción correspondiente a la Reserva de Administración. En la tabla III se presenta un resumen de las asignaciones otorgadas y las capturas 2010 y 2011.

Tabla III.- Asignaciones de CIRC y capturas en toneladas 2010-2011 Merluza Negra (*Dissostichus eleginoides*).

	% CPM	Asignado 2010	Disponible 2010	Asignado 2011	Disponible 2011	Captura 2010	Captura 2011	Excedente 2010	Excedente 2011
Asignaciones CIRC	81,20	2.639,0	2.939,0	2.842,0	3.132,0	2.822,4	2.865,9	117,0	267
Reserva de Administración	18,80	611,0	311,0	658,0	368,0				
Captura incidental						164,0	119,4	147,0	248
Total	100,00	3.250,0	3.250,0	3.500,0	3.500,0	2.986,4	2.985,3	264,0	515

Cinco grupos empresarios intervinieron en la pesquería, con un total de 9 buques. Se analizó la concentración de porcentajes de CIRC de la especie, por empresa o grupo empresario, donde en ningún caso se superó el límite máximo que establece la normativa al respecto (40%, Tabla IV). En 2010 se realizó una transferencia definitiva entre buques del mismo grupo (0,84% cuota); se realizaron 10 transferencias temporales parciales dentro del mismo grupo empresario (659 t), y dos (26 t) realizadas por fuera de las empresas o grupos empresarios a que pertenecen. En 2011 se realizó una transferencia definitiva entre barcos de distintos grupos (1,37% cuota); se realizaron 9 transferencias temporales parciales dentro del mismo grupo empresario (580,8 t), y una (160 t) realizada por fuera de las empresas o grupos empresarios a que pertenecen.

Tabla IV.- Concentración cuotas 2010-2011 Merluza negra (*Dissostichus eleginoides*).

GRUPO ECONOMICO	CIRC 2010	CIRC 2011
Grupo 1	40,00	40,00
Grupo 2	23,02	23,02
Grupo 3	14,98	14,98
Grupo 4	1,48	2,856
Grupo 5	1,72	0,344

En 2010 los buques con cuotas de CIRC de merluza negra capturaron un total de 2.822,4 toneladas, lo que representó un 96,02 % del total del volumen asignado. En 2011 los buques con cuotas de CIRC de merluza negra capturaron un total de 2.869,5 toneladas, lo que

representó un 91,62 % del total del volumen asignado. La captura total de la especie representó de la Captura Máxima Permisible (CMP) establecida 97,89 % en 2010 y el 85,29 % en 2011, (Fig. 2).

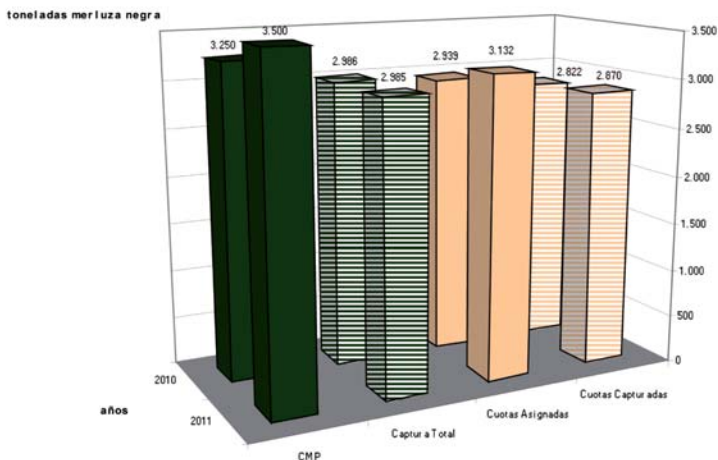


Figura 2.- Captura máxima permisible, asignación de cuotas y capturas realizadas de merluza negra *Dissostichus eleginoides*, en toneladas.

MERLUZA DE COLA (*MACRURONUS MAGELLANICUS*)



Se estableció la captura máxima permisible (CMP) en 150.000 toneladas para los dos años analizados por Resoluciones CFP N° 14/2010 y 18/2010, sobre la base de informes del INIDEP, (Giussi y Wöhler, 2010 b).

Las asignaciones iniciales de CITA de la especie Merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) fueron otorgadas a través del CFP. Las sustracciones por el ítem sanciones se incorporaron al Fondo de Reasignación o a la Reserva de Administración, de acuerdo con su origen.

En la tabla V se observa un resumen de las asignaciones otorgadas, el volumen capturado y el excedente de captura. El Fondo de Reasignación queda con un porcentaje en disponibilidad para su asignación.

Tabla V.- Asignaciones de CITC y capturas en toneladas 2010-2011 Merluza de cola (*Merluccius magellanicus*).

	% CPM	Asignado 2010	Disponible 2010	Asignado 2011	Disponible 2011	Captura 2010	Captura 2011	Excedente 2010	Excedente 2011
Asignaciones CITC	77,28	115.905	128.805	115.920	121.320	80.265,6	66.106,7	45.704	55.213
Reserva de Administración	11,02	16.530	3.630	16.530	11.130				
Disponible en el Fondo de Reasignación	1,70								
Reserva de Conservación	10,00								
Captura inci- dental						2552,3	4.541,7	1.078	6.588
Total		129.600	129.600	132.450	132.450	82.817,9	70.648,4	46.782	61.801

En esta pesquería operaron 18 grupos empresarios con un total de 42 buques iniciales, quedando con cuotas asignadas un total de 37 buques. Aplicando los distintos conceptos reglados por extinción de cuota, el total de porcentaje de CITC de 3 buques que pasaron al fondo de reasignación fue de 2,48%. Se realizaron 7 transferencias definitivas que involucraron 15,33% de CITC en 2010 y 0,33% en 2011.

La captura incidental no superó en el periodo la Reserva de Administración, y fue realizada por 79 buques en 2010 y 78 buques en 2011.

Se analizó la concentración de porcentajes de CITC de la especie, por empresa o grupo empresario, donde en ningún caso se superó el límite máximo que establece la normativa al respecto (15%, Tabla VI). En 2010 se realizaron 5 transferencias temporales parciales dentro del mismo grupo empresario (4630 t), y dos en 2011 (850 t) realizadas por fuera de las empresas o grupos empresarios a que pertenecen.

Tabla VI.- Concentración cuotas 2010-2011 Merluza de cola (*Macruronus magellanicus*).

GRUPO ECONOMICO	2010	2011	GRUPO ECONOMICO	2010	2011
Grupo 1	15,00	15,000	Grupo 10	3,58	3,580
Grupo 2	8,59	8,590	Grupo 11	2,44	2,440
Grupo 3	6,16	6,160	Grupo 12	2,39	2,390
Grupo 4	5,89	5,890	Grupo 13	2,13	2,130
Grupo 5	5,64	5,640	Grupo 14	1,79	2,123
Grupo 6	4,99	4,990	Grupo 15	1,51	1,510
Grupo 7	4,48	6,380	Grupo 16	1,16	0,830
Grupo 8	4,14	4,140	Grupo 17	1,05	1,050
Grupo 9	4,12	4,120	Grupo 18	0,32	0,320
Total cuota asignada				75,38	77,28

En 2010 los buques con cuotas de CITC de merluza de cola capturaron un total de 80.266,6 toneladas, lo que representó un 62,32 % del total del volumen asignado. En 2011 los buques con cuotas de CITC de merluza de cola capturaron un total de 66.350,8 toneladas, lo que representó un 54,69 % del total del volumen asignado. La captura total de la especie representó de la Captura Máxima Permisible (CMP) establecida, un 55,21 % en 2010 y un 47,10 % en 2011. Giussi *et al.* (2011) observaron una tendencia media decreciente de la biomasa reproductiva y proponen para el año 2012 un valor medio de la Captura Máxima Biológicamente Aceptable de 127 mil t.

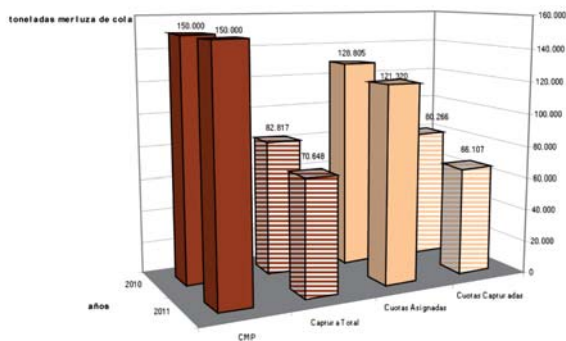


Figura 3.- Captura máxima permisible, asignación de cuotas y capturas realizadas de merluza de cola (*Macruronus magellanicus*), en toneladas.

MERLUZA COMÚN (*MERLUCCIOUS HUBBSI*) -AL SUR DEL PARALELO 41°S

La captura máxima permisible (CMP) de la merluza común al sur del paralelo 41°S se estableció en 2010 en 290.000 t por Resolución CFP N° 28/2009 y en 2011 en 273.000 t. Resolución CFP N° 18/2010, sobre la base de los informes del INIDEP, (Villarino y Santos 2009, 2010).

La asignación de CITC de la especie merluza común (*Merluccius hubbsi*) fue otorgada según se detalla en la tabla VII:

Tabla VII.- Detalle de la distribución y asignación de la CMP de la merluza común al sur del paralelo 41°S.

Detalle	Inicial %	Final 2010	Final 2011
Asignación	68,2491	88,4271	88,5915
Provisión Administrativa	0,25		
Reserva Artesanal	2,76	2,76	2,76
Reserva Social	27,07	8,1611	8,1611
Fondo de Reasignación	1,2209	0,2018	0,0374
Reserva de Administración	0,45	0,45	0,45
Total	100,000	100,000	100,000

La captura incidental no superó en el periodo la Reserva de Administración, y fue realizada por 10 buques en 2010 con 153,7 t y 85 buques en 2011 con 302,8 t (12,8% y 24,6% de la Reserva de Administración respectivamente).

Para el recurso merluza común se estableció la distribución inicial por jurisdicción de la Reserva Social creada con el objetivo de alcanzar el máximo rendimiento sustentable de los recursos pesqueros y optimizar los beneficios sociales y económicos inherentes a la actividad pesquera, como sigue: Autoridad de Aplicación Ley 24.922, 12,45 %; Provincia de Buenos Aires 7,56 %; Provincia de Río Negro 1,03 %; Provincia de Chubut 4,31 %; Provincia de Santa Cruz 1,72 %.

Intervinieron efectivamente en la pesquería un total de 101 grupos empresarios diferentes (90 en 2010 y 93 en 2011) con un total de 225 buques, operativos 211 al finalizar 2011. Se analizó la concentración de porcentajes de CITC de la especie, por empresa o grupo empresario, donde en ningún caso se superó el límite máximo que establece la normativa al respecto (10%, Tabla VIII).

Tabla VIII.- Concentración de cuota en grupos empresarios.

Grupos	2010	2011
Grupo 1	8,3658	8,3658
Grupo 2	7,9549	7,7949
Grupo 3	7,6298	7,6298
Grupo 4	7,2255	7,2255
Grupo 5	4,7175	4,7175
Grupo 6	4,2199	4,2199
Grupo 7	4,1873	4,1873
Grupos 8 a 101	< 4	< 4
Total	88,4271	88,5915

Los buques que excedieron la cuota en 2010 realizaron compensaciones al interior del grupo empresario, quedando 14 buques con excedentes por un total de 1.940,1 t que se cubrieron con la Reserva social de la autoridad de aplicación.

Las transferencias temporales realizadas durante el ejercicio fueron diferenciadas entre las que se hicieron dentro del mismo grupo empresario, las realizadas por fuera de las empresas o grupos empresarios a que pertenecen y las transferencias parciales por interés social solicitadas por la Provincia en que el buque cedente registra su puerto base. Las toneladas involucradas por año se observan en la tabla IX.

Tabla IX.- Transferencias de cuota por tipo y año (en toneladas).

Tipo de transferencia	2010	2011
Transferencia parcial dentro de la misma empresa o grupo empresario	44.136,6	37.296,8
Transferencia parcial fuera de su empresa o grupo empresario	3.415,0	7.798,8
Transferencia parcial por interés Social Provincias	1.124,4	1.141,0
TOTAL	48.676,0	46.536,6

Como se observa en la figura 4, los buques con cuotas de CIRC de la especie merluza común capturaron un total de 239.741 t en 2010 y 238.791 t en 2011, lo que representa un 90,2% y un 92,2 % respectivamente del volumen total asignado para el ejercicio. La captura total de la especie al sur del paralelo 41°S representó el 85,4% en 2010 y el 91,2 % en 2011 de la Captura Máxima Permisible (CMP) finalmente establecida para el año respectivo.

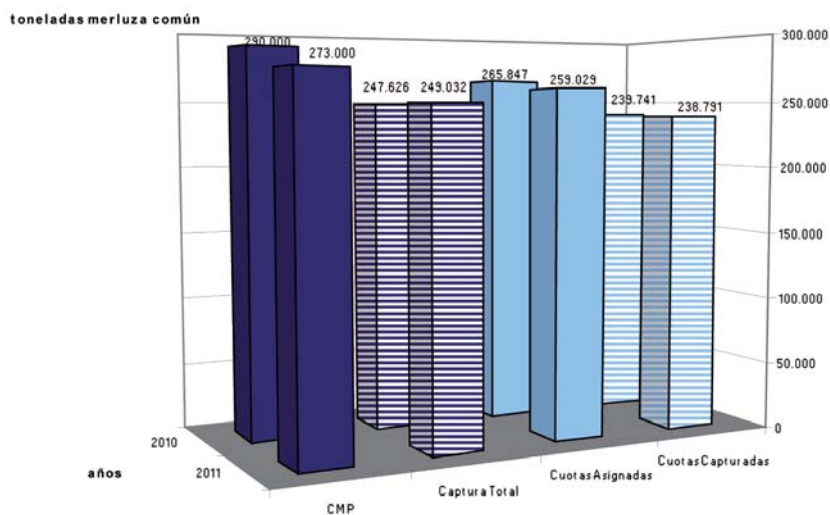


Figura 4.- Captura máxima permisible, asignación de cuotas y capturas realizadas de merluza común (*Merluccius hubbsi*), en toneladas.

CONCLUSIONES

En todos los casos analizados la captura de los buques no excedió la captura asignada por especie y la captura total no superó la Captura Máxima Permissible.

El régimen de administración resultó efectivo al permitir compensaciones a través de las reservas específicas, que permitieron ajustar las distribuciones iniciales de las cuotas por barco y especie.

Las características de las cuotas (divisibilidad y transferibilidad total y parcial, definitiva o transitoria), facultaron las compensaciones por transferencia entre buques del mismo grupo empresario y las transferencias parciales y totales entre buques de distintos grupos empresarios, facilitando la organización empresarial y la planificación de las operaciones de pesca.

En el caso de la merluza común, la previsión de Reserva Social permitió realizar distribuciones a efectos de cubrir necesidades sociales locales.

En las especies merluza de cola y polaca el porcentaje reducido de explotación de las CMP tiene relación con los problemas de disponibilidad de estos recursos detectados en el período.

BIBLIOGRAFÍA

- Giussi A.R., Wöhler O.C. 2010a. Evaluación de la abundancia de polaca (*Micromesistius australis*) en el Atlántico Sudoccidental. Período 1987 y 2009. Informe Técnico Oficial INIDEP N° 24/10, 19 pp.
- Giussi A.R., Wöhler O.C. 2010b. Evaluación de la abundancia de merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) en el Atlántico Sudoccidental. Período 1985 y 2009. Informe Técnico Oficial INIDEP N° 25/10, 26 pp.
- Giussi A.R., Rodríguez J.S., Di Marco E.J., Wöhler O.C. 2011. Evaluación de la abundancia de polaca (*Micromesistius australis*) en el Atlántico Sudoccidental. Período 1987-2010. Informe Técnico Oficial INIDEP N° 34/11, 17 pp.
- Giussi A.R., Aubone A., Rodríguez J.S., Di Marco E.J., Zattereri A. 2011. Evaluación de la abundancia de la población de merluza de cola (*Macruronus magellanicus*) en el Atlántico Sudoccidental entre los años 1985 y 2010. Informe Técnico Oficial

INIDEP N° 37/11, 22 pp.

Martínez P., Wöhler O.C. 2010. Estimación de la abundancia y el potencial pesquero de la merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) del Atlántico Sudoccidental. Período 1986-2009 Informe Técnico N° 19/2010, 35 pp.

Villarino M.F., Santos B.A. 2009. Evaluación del estado de explotación del efectivo sur de 41°S de la merluza (*Merluccius hubbsi*) y estimación de las capturas biológicamente aceptables correspondientes a los años 2009 y 2010. Informe Técnico N° 46/2009, 37 pp.

Villarino M.F., Santos B.A. 2010. Evaluación del estado de explotación del efectivo sur de 41°S de la merluza (*Merluccius hubbsi*) y estimación de las capturas biológicamente aceptables correspondiente al año 2011. Informe Técnico N° 43/2010, 27 pp.

Respuesta de la expresión de hormonas hipofisarias en juveniles de bagre (*Rhamdia quelen*) sometidos a diferentes densidades de cultivo

Menezes¹ C.C., Martos-Sitcha^{2,3} J.A., Toni⁴ C., Salbego⁴ J., Becker⁴ A., Mancera³ J.M., Loro¹ V.L., Baldisserotto⁴ B., Martínez-Rodríguez² G.

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

²Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Puerto Real, Cádiz, Spain

³Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, Spain.

⁴Departamento de Fisiología e Farmacología, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

juanantonio.sitcha@uca.es

RESUMEN

Las hormonas hipofisarias prolactina (PRL), hormona del crecimiento (GH) y somatotactina (SL) presentan un papel muy importante en un gran número de procesos fisiológicos, así como en el mantenimiento de la homeostasis del medio interno. En la práctica acuícola, la densidad de cultivo es una variable crucial a tener en cuenta, dado que puede activar el sistema de estrés alterando la expresión génica y el papel fisiológico de estas hormonas. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar los efectos de diferentes densidades de cultivo y alimentación sobre la expresión de PRL, GH y SL en el bagre negro (*Rhamdia quelen*). Ejemplares de bagre ($173,20 \pm 8,33$ g y $27,17 \pm 0,55$ cm) fueron aclimatados inicialmente durante 10 días a las condiciones de laboratorio, y posteriormente divididos en cuatro grupos sometidos a las siguientes condiciones experimentales: i) alta densidad (32 kg/m³), ii) media densidad (16 kg/m³), iii) baja densidad (8 kg/m³) alimentados diariamente, y iv) baja

densidad (8 kg/m³) mantenidos en ayuno. La expresión de PRL no se afectó por ninguno de los dos factores (densidad y ayuno). La expresión de GH fue similar en todos los grupos a día 7, pero mostró sus valores más bajos en los ejemplares del grupo de alta densidad a los 14 días de experimentación. Por su parte, la expresión de SL disminuyó en los grupos de media y alta densidad en ambos puntos de muestreo. Nuestros resultados muestran cómo la expresión tanto de GH como de SL en juveniles de bagre, *Rhamdia quelen*, están afectados por la densidad de cultivo y el régimen de alimentación.

PALABRAS CLAVE

Densidad de carga, estrés, hormonas hipofisarias, *Rhamdia quelen*.

INTRODUCCIÓN

El sistema endocrino juega un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis en respuesta a cambios producidos en el ambiente. Muchos de esos procesos están controlados, directa o indirectamente, por diversas hormonas adenohipofisarias. Entre ellas, la prolactina (PRL), la hormona del crecimiento (GH) y la somatolactina (SL), pertenecientes a una misma familia de hormonas dada su semejanza estructural, presentan diferentes funciones relacionadas con diversos procesos fisiológicos (Björnsson, 1997; Pérez-Sánchez, 2000; Manzon, 2002; Vega-Rubín de Celis *et al.*, 2004).

La PRL ha sido descrita como una hormona esencial para la aclimatación a ambientes hipoosmóticos, estando también relacionada con procesos de reproducción, estrés y metabolismo (Cavaco *et al.*, 2003; Mancera and McCormick, 2007; Laiz-Carrión *et al.*, 2009). Por su parte, la GH controla el crecimiento, aunque también ha sido descrita su participación en procesos metabólicos y de osmorregulación (Björnsson, 1997; Sakamoto and McCormick, 2006; Mancera and McCormick, 2007). Para el caso de la SL, esta hormona parece estar involucrada en una amplia variedad de procesos fisiológicos, incluyendo la respuesta al estrés, reproducción, regulación ácido-base, crecimiento y metabolismo (Vega-Rubín de Celis *et al.*, 2004; Kawauchi and Sower, 2006; Fukamachi and Meyer, 2007). Además, estudios previos han demostrado los efectos de diversos agentes estresantes sobre la expresión de estas hormonas (Laiz-Carrión *et al.*, 2009; Vargas-Chacoff *et al.*, 2009).

El bagre *Rhamdia quelen* es un pez neotropical que, debido a su altas tasas de crecimiento y a su fácil reproducción en sistemas de cultivo en climas subtropicales, muestra un alto potencial para la acuicultura en la región de Rio Grande do Sul (Sur de Brasil) (Gomes *et al.*, 2000; Baldisserotto, 2009; de Amorin *et al.*, 2009). Por ello, el presente estudio fue diseñado con el fin de investigar los efectos de diferentes densidades de cultivo y regímenes de alimentación en la expresión de las hormonas hipofisarias PRL, GH y SL en esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

Juveniles de bagre ($173,20 \pm 8,33$ g y $27,17 \pm 0,55$ cm) fueron obtenidos a partir de una producción propia de la Universidade Federal de Santa María (Rio Grande do Sul, Brasil), trasladados al Laboratorio de Fisiología de Peces de la Universidad Federal de Santa María (Sur de Brasil) y mantenidos en tanques de 250 L en circuito abierto durante 10 días antes del comienzo del experimento en condiciones naturales de fotoperiodo (12h:12h). Los parámetros de calidad del agua fueron analizados y controlados durante los periodos de aclimatación y experimentación (T: $22,0 \pm 0,7$ °C; pH: $7,0 \pm 0,5$; oxígeno disuelto: $8,0 \pm 0,2$ mg/L; nitrito: $0,08 \pm 0,01$ mg/L; alcalinidad: $37,0 \pm 3,2$ mg/L CaCO₃; y nitrógeno amoniacal total: $0,009 \pm 0,001$ mg/L). Después del periodo de aclimatación, los ejemplares fueron transferidos a tanques de 250 L con flujo continuo de aire y agua y divididos en cuatro grupos experimentales por duplicado: i) alta densidad (AD, 32 kg/m³), ii) media densidad (MD, 16 kg/m³), iii) baja densidad (BD, 8 kg/m³) alimentados diariamente, y iv) baja densidad en ayuno (BD-A, 8 kg/m³). Tras 7 y 14 días de experimentación, los animales fueron anestesiados con 50 mg/L de eugenol durante 3 min, pesados, medidos y muestreados ($n = 8$ ejemplares por punto de muestreo y condición experimental). Los especímenes fueron sacrificados mediante sección de la espina dorsal, las hipófisis fueron recolectadas en RNAlater y almacenadas a -80 °C hasta su análisis. Posteriormente, las muestras fueron transportadas hasta el Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC, Cádiz, España) para el análisis de la expresión hipofisaria de PRL, GH y SL. La metodología de este experimento fue aprobada por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Universidade Federal de Santa Maria.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE HORMONAS HIPOFISARIAS

El ARN total fue extraído de las hipófisis usando el kit comercial NucleoSpin® RNA XS

(Macherey-Nagel). La calidad del ARN total fue analizada mediante el Bioanalyzer 2100 con el kit RNA 6000 Nano kit (Agilent Technologies), mientras que la concentración fue medida espectrofotométricamente a 260 nm con el BioPhotometer Plus (Eppendorf). La reverso-transcripción hasta ADN complementario (ADNc) se llevó a cabo a partir de 500 ng de ARN total, usando el kit qScript™ cDNA synthesis (Quanta BioSciences). Las reacciones de QPCR fueron realizadas con 10 ng de ADNc y 200 nM de cada par de primers (PRL, GH y SL) en placas de 96 pocillos con el kit PerfeCTa™ SYBR® Green FastMix™ (Quanta BioSciences). Para el método de semicuantificación se utilizó la β -actina como gen de referencia para la normalización de los datos (Livak y Schmittgen, 2001).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La homogeneidad de las diferencias entre los tratamientos fue puesta a prueba por el test de Levene, y el análisis de la varianza mediante ANOVA de una vía seguido del Test de Tukey utilizando el software Statistica (versión 6). El nivel mínimo de significación fue del 95 % ($P < 0,05$).

RESULTADOS

La expresión de PRL no mostró diferencias significativas a lo largo del transcurso del experimento (Fig. 1).

La expresión de GH fue similar en todos los grupos experimentales después de 7 días, mientras que en el día 14 los niveles de expresión mostraron el valor más bajo en el grupo mantenido en alta densidad. En ese mismo día, se apreció un aumento significativo en el grupo mantenido en baja densidad y ayuno en comparación con el grupo de baja densidad y alimentado (Fig. 2).

Por su parte, la expresión de SL disminuyó estadísticamente a los 7 y 14 días de experimentación en los ejemplares mantenidos bajo condiciones de media y alta densidad, así como en los mantenidos en ayuno. Además, el grupo de baja densidad mantenido en ayuno incrementó al día 14 los valores de expresión de la hormona, comparados con los registrados al día 7 de experimentación (Fig. 3).

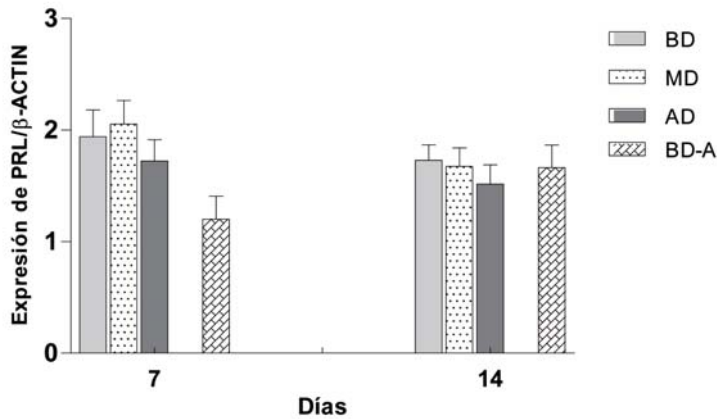


Figura 1.- Expresión de PRL hipofisaria en ejemplares de bagre (*Rhamdia quelen*) sometidos a diferentes densidades de cultivo y/o regímenes de alimentación (AD, 32 kg/m³; MD, 16 kg/m³; BD, 8 kg/m³; y BD-A, 8 kg/m³ y ayuno) tras 7 y 14 días de experimentación ($n = 8$; medias \pm EEM).

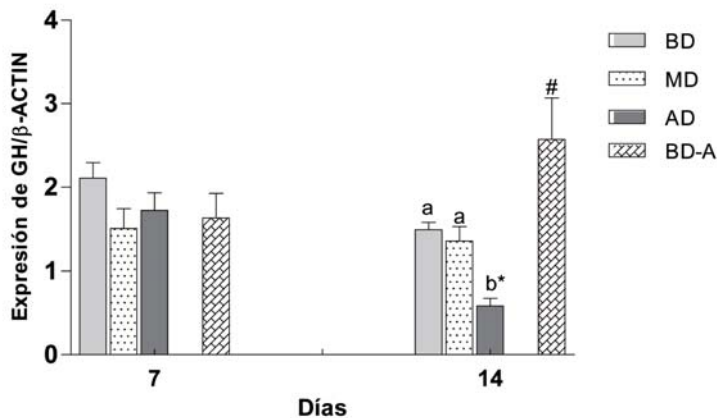


Figura 2.- Expresión de GH hipofisaria en ejemplares de bagre (*Rhamdia quelen*) sometidos a diferentes densidades de cultivo y/o regímenes de alimentación (AD, 32 kg/m³; MD, 16 kg/m³; BD, 8 kg/m³; y BD-A, 8 kg/m³ y ayuno) tras 7 y 14 días de experimentación ($n = 8$; medias \pm EEM). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre distintos grupos en el mismo día. * indica diferencias significativas para el mismo grupo experimental en diferentes puntos de muestreo. # indica diferencias significativas entre BD y BD-A en el mismo tiempo de muestreo ($P < 0,05$).

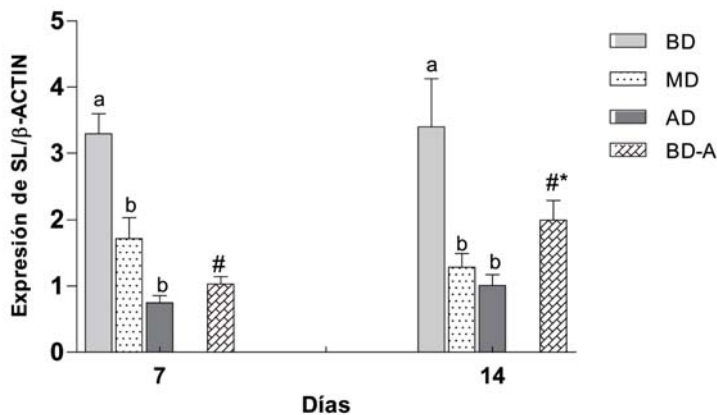


Figure 3.- Expresión de SL hipofisaria en ejemplares de bagre (*Rhamdia quelen*) sometidos a diferentes densidades de cultivo y/o regímenes de alimentación (AD, 32 kg/m³; MD, 16 kg/m³; BD, 8 kg/m³; y BD-A, 8 kg/m³ y ayuno) tras 7 y 14 días de experimentación ($n = 8$; medias \pm EEM). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre distintos grupos en el mismo día. * indica diferencias significativas para el mismo grupo experimental en diferentes puntos de muestreo. # indica diferencias significativas entre BD y BD-A en el mismo tiempo de muestreo ($P < 0,05$).

DISCUSIÓN

La densidad de cultivo y el ayuno son dos factores que pueden influir en la expresión de hormonas hipofisarias, tales como PRL, GH y SL (Laiz-Carrión *et al.*, 2009).

Variaciones en los niveles de PRL han sido descritas previamente en respuesta a situaciones de estrés por confinamiento en otras especies de peces (*Oncorhynchus kisutch*: Avella *et al.*, 1991; *Oreochromis mossambicus*: Auperin *et al.*, 1995). En ejemplares de dorada (*Sparus aurata*) aclimatados a condiciones de alta salinidad, así como de alta densidad y ayuno, los elevados niveles de ARN mensajero (ARNm) de PRL sugieren una activación de la expresión de esta hormona durante situaciones de estrés y su participación en estos procesos (Laiz-Carrión *et al.*, 2009). Sin embargo, nuestros datos no muestran cambios en la expresión de la PRL en ninguno de los tratamientos, indicando que esta hormona no presenta un papel durante los procesos de estrés o bien que las densidades de cultivo utilizadas y el tiempo de

ayuno no sean condiciones suficientes para activar la sobre-expresión de PRL.

La GH ha sido igualmente asociada al proceso de estrés, describiéndose una relación negativa entre ambos ejes (Rotllant *et al.*, 2000). En el estudio realizado por Laiz-Carrión *et al.* (2009) se observó cómo la alta densidad de cultivo por sí sola inducía, en un periodo corto de tiempo, un aumento en los niveles de ARNm de la GH. En cambio, en nuestro estudio, los valores más bajos de expresión se encontraron en condiciones de alta densidad a los 14 días. Este efecto podría estar relacionado con el estrés inducido por la alta densidad, el cual inhibe el crecimiento a través de efectos negativos en el metabolismo y alteraciones del sistema endocrino. En cambio, en el grupo de baja densidad y ayuno se produjo una tendencia hacia el incremento de la expresión, tal y como ha sido indicado anteriormente para otros teleósteos mantenidos en situaciones de ayuno, en los que los niveles plasmáticos de GH se incrementaron en situaciones de ayuno (Pérez-Sánchez and Le Bail, 1999; Mingarro *et al.*, 2002).

En el caso de la SL, situaciones de estrés como el confinamiento producen un aumento en los niveles de expresión de la hormona (Wendelaar Bonga, 1997). Una respuesta similar ha sido descrita en la dorada, para la que peces mantenidos bajo condiciones de alimentación y alta densidad incrementaron los niveles de expresión de SL, poniendo de manifiesto el papel de esta hormona frente a la respuesta al estrés (Laiz-Carrión *et al.*, 2009). Por su parte, Kakizawa *et al.* (1995) observaron que una situación de estrés agudo como el ejercicio exhaustivo provoca un aumento en la expresión de SL en la trucha arco-iris (*O. mykiss*). En cambio, nuestros resultados muestran una disminución de la expresión de SL en los grupos mantenidos en condiciones de media y alta densidad de cultivo en ambos puntos de muestreo, produciendo las condiciones de ayuno una disminución de los niveles de ARNm respecto a los del grupo alimentado.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados muestran como las hormonas PRL, GH y SL muestran comportamientos diferentes ante los diferentes agentes estresantes usados en este estudio (densidad y ayuno). De este modo, los datos parecen indicar: i) la no participación en los procesos de estrés; ii) el efecto negativo de la densidad sobre la expresión de la GH, posiblemente mediado por el cortisol, así como una estimulación de dicha expresión ante situaciones de ayuno; y iii) un efecto negativo tanto de la densidad como del ayuno sobre la expresión de SL.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por becas de la Agencia Brasileña CAPES a través del programa “Coordenação de Apoio ao Pessoal de Ensino Superior” otorgado a VLL y CCM (Ref: 1585-12-6), y por el Proyecto AGL2010-14876 (Ministerio de Ciencia y Educación, España) a JMM. JAM-S está financiado por el Ministerio de Educación (España) a través del programa “Formación de Profesorado Universitario (FPU)” (Ref: AP2008-01194).

REFERENCIAS

- Auperin B., Rentier-Delrue F., Martial J.A., Prunet P. 1995. Regulation of gill prolactin receptors in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) after a change in salinity or hypophysectomy. *J. Endocrinol.* 145: 213–220.
- Avella M., Schreck C.B., Prunet, P. 1991. Plasma prolactin and cortisol concentrations of stressed coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, in fresh water or salt water. *Gen. Comp. Endocrinol.* 81: 21–27.
- Baldisserotto B. 2009. Freshwater fish culture in Rio Grande do Sul State: actual situation, problems and future perspectives. *Ciências Rural* 39: 291-299.
- Björnsson B.T. 1997. The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance. *Fish Physiol. Biochem.* 17: 9-24.
- Cavaco J.E.B., Santos C.R.A., Ingleton P.M., Canário A.V.M., Power D.M. 2003. Quantification of prolactin (PRL) and PRL receptormessenger RNA in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) after treatment with estradiol-17 β . *Biol. Reprod.* 68: 588–594.
- de Amorin M.P., Gomes B.V.C., Martins Y.S., Sato Y., Rizzo E., Bazzoli N. 2009. Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces: Heptapteridae) from the São Francisco River Basin, Brazil. *Aquaculture Res.* 40: 172- 180.
- Fukamachi S. and Meyer A. 2007. Evolution of receptors for growth hormone and somatotactin in fish and land vertebrates: lessons from the lungfish and sturgeon orthologues. *J. Mol. Evol.* 65: 359–372.
- Gomes L.C., Golombieski J.I., Gomes A.R.C. 2000. Biology of *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pelmelodidae). *Ciência Rural* 30: 179-185.

- Kakizawa S., Kaneko T., Hasegawa S., Hirano T. 1995. Effects of feeding, fasting, background adaptation, acute stress, and exhaustive exercise on the plasma somatolactin concentrations in rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 98: 137–146.
- Kawauchi H., Sower S.A. 2006. The dawn and evolution of hormones in the adenohypophysis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 148: 3–16.
- Laiz-Carrión R., Fuentes J., Redruello B., Guzmán J.M., Martín del Río M.P., Power D., Mancera J.M. 2009. Expression of pituitary prolactin, growth hormone and somatolactin is modified in response to different stressors (salinity, crowding and food-deprivation) in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 162: 293–300.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods* 25(4): 402-408.
- Mancera J.M., McCormick S.D. 2007. Role of prolactin, growth hormone, insuline-like growth factor and cortisol in teleost osmoregulation. En: Baldisserotto B., Mancera J.M., Kapoor B.G. (eds.). *Fish Osmoregulation*. En Science Publishers. pp. 497–515.
- Manzon L.A. 2002. The role of prolactin in fish osmoregulation: a review. *Gen. Comp. Endocrinol.* 125: 291-310.
- Mingarro M., Vega-Rubin de Celis S., Astola A., Pendón C., Valdivia M.M., Pérez-Sánchez J. 2002. Endocrine mediators of seasonal growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*): the growth hormone and somatolactin paradigm. *Gen. Comp. Endocrinol.* 128: 102-111.
- Pérez-Sánchez J. 2000. The involvement of growth hormone in growth regulation, energy homeostasis and immune function in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*): a short review. *Fish Physiol. Biochem.* 22: 135–144.
- Pérez-Sánchez J., Le Bail, P.Y. 1999. Growth axis as marker of nutritional status and growth performance in fish. *Aquaculture* 177: 117-128.
- Rotllant J., Balm P.H.M., Ruane N.M., Pérez-Sánchez J., Wendelaar Bonga S.E., Tort L. 2000. Pituitary proopiomelanocortin-derived peptides and hypothalamus-pituitary-interrenal axis activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during prolonged crowding stress: differential regulation of adrenocorticotropin hormone and alpha-melanocyte-stimulating hormone release by corticotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 119: 152–163.
- Sakamoto T., McCormick S.D. 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147: 24–30.
- Vargas-Chacoff L., Astola A., Arjona F.J., Martín del Río M.P., García-Cózar F., Mancera J.M., Martínez-Rodríguez G. 2009. Pituitary gene and protein expression under

experimental variation on salinity and temperature in gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Comp. Biochem. Physiol.* 154B: 303-308.

Vega-Rubin de Celis S., Rojas P., Gómez-Requeni P., Albalat A., Gutiérrez J., Medale F., Kaushik S.J., Navarro I., Pérez-Sánchez J. 2004. Nutritional assessment of somatolactin function in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): concurrent changes in somatotropic axis and pancreatic hormones. *Comp. Biochem. Physiol.* 138A: 533–542.

Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Research* 77: 591-625.



GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD



Repuesta de la expresión de hormonas hipofisarias en juveniles de bagre (*Rhamdia quelen*) sometidos a diferentes densidades de cultivo

Menezes, C.C. (1), Martos-Sitcha, J.A. (2,3), Toni, C. (4), Salbego, J. (4), Becker, A. (4), Mancera, J.M. (3), Loro, V.L. (1), Baldisserotto, B. (4) y Martínez-Rodríguez, G. (2)

1 Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS - Brasil.
2 Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz).
3 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, 11510 Puerto Real (Cádiz).
4 Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS - Brasil

INTRODUCCIÓN

El sistema endocrino juega un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis en respuesta a cambios producidos en el ambiente. Muchos de esos procesos están controlados, directa o indirectamente, con diversas hormonas adenohipofisarias. Entre ellas, la prolactina (PRL), la hormona del crecimiento (GH) y la somatotropina (SL), pertenecientes a una misma familia de hormonas dada su semejanza estructural, se sintetizan en la hipófisis de organismos vertebrados, mostrando diferentes funciones relacionadas con diversos procesos fisiológicos (Vega-Rubín de Celis et al., 2004).

Estudios previos han demostrado los efectos de diversos agentes estresantes sobre la expresión de estas hormonas en peces (Laliz-Carrón et al., 2009; Vargas-Chacoff et al., 2009a,b). *Rhamdia quelen* es un pez neotropical que muestra un alto potencial para la acuicultura en la región de Rio Grande do Sul, al Sur de Brasil (Gomes et al., 2000; Baldisserotto, 2009).

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de diferentes condiciones de densidad de cultivo y regimenes de alimentación en la expresión de las hormonas adenohipofisarias PRL, GH y SL en el bagre (*Rhamdia quelen*).

MATERIAL Y MÉTODOS



Se testaron cuatro grupos experimentales en duplicado

Alta densidad (AD) - 32 kg/m ³	Alimentados diariamente
Media densidad (MD) - 16 kg/m ³	
Baja densidad (BD) - 8 kg/m ³	
Baja densidad (BD-A) - 8 kg/m ³	Ayuno

Muestras
7 y 14 días de exposición

Extracción de ARN total y qPCR



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

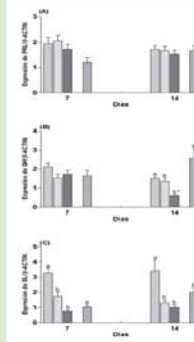


Figura 1. Expresión de (A) PRL, (B) GH y (C) SL, hipofisaria en juveniles de bagre (*Rhamdia quelen*) sometidos a diferentes densidades de cultivo en respuesta de alimentación (AD y BD) a 7 y 14 días de experimentación en 8 repeticiones de alimentación (8x) y 0 repeticiones (0x) en el mismo día. * indica diferencias significativas entre densidad grupo en el mismo día. * indica diferencias significativas para el mismo grupo experimental en diferentes puntos de muestreo. * indica diferencias significativas entre BD y BD-A en el mismo punto de muestreo (p<0.05).

A) La expresión de PRL no mostró diferencias significativas a lo largo del transcurso del experimento.

B) A día 14, los niveles de expresión de GH mostraron el valor más bajo en el grupo mantenido en alta densidad, mostrándose un aumento significativo en el grupo mantenido en baja densidad y ayunado.

C) La expresión de SL disminuyó estadísticamente a los 7 y 14 días en los grupos de MD, AD y BD-A. Además, el grupo de BD-A incrementó sus valores a día 14 en comparación con los registrados el día 7 de experimentación.

Los resultados muestran la alta complejidad del eje frente a dos fuentes combinadas de estrés, donde el ayuno prolongado durante 14 días parece ser insuficiente en cuanto a tiempo para la completa activación del eje. Además, al tratarse de una especie gregaria, la activación del eje de estrés parece estar activado de forma interse, en donde bajas densidades de cultivo provocarían una disminución del bienestar animal de los ejemplares, y por tanto un desajuste, en general, de los niveles de expresión de las hormonas adenohipofisarias.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por becas de la Agencia Brasileira CAPES a través del programa "Coordinación de Apoio ao Pessoal de Ensino Superior" otorgado a VLL y CCM (Ref: 1585-12-6), por el Proyecto 473718/2011-1 (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) otorgado a BB y por el Proyecto AGL2010-14876 (Ministerio de Educación y Ciencia, España) a JMM. JAM-S está financiado por el Ministerio de Educación (España) a través del programa "Formación de Profesorado Universitario (PPU)" (Ref: AP2008-01184).

REFERENCIAS

Baldisserotto, B. 2009. Freshwater fish culture in Rio Grande do Sul State: actual situation, problems and future perspectives. *Ciencia Rural* 39: 291-296.
Gomes, C.C., Guimarães, J., Gomes, A.B.C. 2006. Biology of *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). *Ciencia Rural* 36: 179-188.
Lal-Carrión, R., Fuentes, J., Martínez, B., Domínguez, J.M., Martín del Río, M.P., Peces, D., Mancera, J.M. 2009. Expression of pituitary prolactin, growth hormone and somatotropin in rainbow trout in different stressors (salinity, crowding and food-deprivation) in gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Genet and Comparative Endocrinology* 162: 293-300.
Vargas-Chacoff, L., Andía, A., Rojas, P.J., Martín del Río, M.P., García-Casas, F., Mancera, J.M., Martínez-Rodríguez, G. 2009a. Gene and protein expression for prolactin, growth hormone and somatotropin in Spanish sea bass, *Diplodus sargus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 153: 120-126.
Vargas-Chacoff, L., Andía, A., Rojas, P.J., Martín del Río, M.P., García-Casas, F., Mancera, J.M., Martínez-Rodríguez, G. 2009b. Prolactin gene and protein expression under experimental variation in salinity and temperature in gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 154: 353-360.
Vega-Rubín de Celis, B., Rojas, P., Gómez-Ruano, P., Abadía, A., Galimberti, J., Medina, F., Kaurin, S.J., Sorensen, I., Pérez-Sánchez, J. 2004. Molecular expression of somatotropin function in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) revealed changes in somatotropin gene and processed hormones. *Comparative Biochemistry and Physiology* 139A: 533-542.

***Shewanella putrefaciens* Pdp11 bioencapsulada en *Artemia salina* modifica su composición bioquímica y mejora el crecimiento larvario y postlarvario de *Solea senegalensis* (Kaup, 1858)**

Lobo¹ C., García de la Banda¹ I., Rodríguez² C., Moriñigo³ M.A., Moreno-Ventas⁴ X., Canteras⁴ J.C., Pazos⁵ G.

¹Instituto Español de Oceanografía C.O. Santander. Prom. San Martín s/n CP 39080 Santander, España.

²Dpto Microbiología Facultad Ciencias Universidad de Málaga Campus Teatinos 29071 Málaga, España.

³Dpto Biología Animal Facultad de Biología Universidad de La Laguna CP 38206 La Laguna, España.

⁴Área de Ecología CYTAMA. Universidad de Cantabria Avda Castros s/n CP 39005 Santander, España.

⁵Centro de Investigacions Mariñas Apdo. 13, Vilanova de Arousa CP36620 Pontevedra, España.

RESUMEN

La investigación en la aplicación de probióticos en piscicultura ha experimentado un gran avance. Su empleo en las primeras etapas de desarrollo del cultivo de peces puede constituir un suplemento nutritivo muy beneficioso para la salud de los ejemplares, así como una eficaz herramienta para enfrentar el estrés propio del cultivo a nivel industrial.

A pesar del progreso conseguido en los últimos años en la producción de alevines de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*), la obtención de ejemplares de calidad homogénea requiere una mayor investigación. El objetivo del presente trabajo es estudiar la influencia nutritiva de la administración de la cepa *S. putrefaciens* Pdp11 durante las primeras etapas

de desarrollo del lenguado senegalés, dados los buenos resultados obtenidos en el engorde.

Se distribuyeron larvas de *S. senegalensis* recién eclosionadas en tanques (40 larvas L-1) por triplicado. El protocolo de alimentación estuvo basado en Cañavate y Fernández-Díaz (1999) con las modificaciones descritas en García de la Banda et al. (2008). Se compararon dos regímenes alimenticios: Control y Pdp11. El probiótico *S. putrefaciens* Pdp11 fue incubado diariamente en placas de TSA salino a 22°C, recogido y suspendido en una solución de PBS. Posteriormente el probiótico se añadió a la *Artemia* ($2,5 \times 10^7$ ufc mL⁻¹), 3 horas antes de su administración a las larvas, desde el día 10 al 30 de cultivo

Semanalmente se tomaron muestras de 30 larvas por réplica para la determinación del crecimiento en longitud y peso. Para los análisis bioquímicos se tomaron 3 muestras de *Artemia* control y *Artemia* suplementada con Pdp11, así como 9 ejemplares por tratamiento a lo largo del experimento. Las proteínas y los lípidos fueron determinados por los métodos de Bradford (1976) y de Blight and Dyer (1959), modificado por Fernández-Reiriz et al., (1989), respectivamente. El perfil de ácidos grasos en *Artemia* fue cuantificado mediante cromatografía de gases según Linares et al. (2001). Con el fin de determinar la dispersión de tamaños se calculó el Coeficiente de Variación de Pearson a lo largo del experimento. Tras comprobar la normalidad de los datos de crecimiento y bioquímicos, se aplicó el test de ANOVA. En aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas se realizó un test de Tukey y post-hoc de Games-Howell ($\alpha = 0,05$).

La bioencapsulación de *S. putrefaciens* Pdp11 en *Artemia* entre los días 10 y 30 de cultivo mejoró la calidad nutritiva de la presa viva suministrada al lenguado senegalés. Esta suplementación modificó la composición en proteínas y lípidos de los ejemplares y produjo un mayor crecimiento de los mismos desde su administración hasta el final del experimento.

PALABRAS CLAVE

Solea senegalensis, probióticos, larva, nutrición.

INTRODUCCIÓN

La investigación en la aplicación de probióticos en piscicultura ha experimentado un

gran avance en los últimos años (Tihn *et al.*, 2008; Merrifield *et al.*, 2010; Dimitroglou *et al.*, 2011), siendo una realidad a nivel comercial en la UE desde 2010. Su empleo en las primeras etapas de desarrollo del cultivo de peces puede constituir un suplemento nutritivo muy beneficioso para mejorar la salud de los ejemplares (Gatesoupe, 2005; Carnevali *et al.*, 2006; Avella *et al.*, 2011). Igualmente el aporte probiótico puede ser una eficaz herramienta para enfrentar el estrés propio del cultivo a nivel industrial (Vine *et al.*, 2006).

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*, Kaup) ha sido tradicionalmente cultivado de modo extensivo en el Sur de España y Portugal (Dinis *et al.*, 1999; Gavaia *et al.*, 2002). Ya desde los años 90 ha sido considerada una de las especies con mayor potencial para su cultivo intensivo (Cañavate, 2005; Conceicao, 2007).

El lenguado senegalés en cultivo experimenta durante su desarrollo una situación de estrés en la metamorfosis y otra posterior asociada al cambio de alimento vivo a inerte. A pesar del progreso conseguido en los últimos años en cuanto a la producción de alevines de esta especie, la obtención de ejemplares de calidad homogénea precisa aún una mayor investigación (Dámaso-Rodrigues *et al.*, 2010). Se ha observado que la naturaleza del alimento suministrado en las fases de cultivo larvario y postlarvario son determinantes, tanto para el correcto desarrollo de las larvas y postlarvas, como para el de los futuros alevines. (Saenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005; Gisbert *et al.*, 2008; Alves-Martins *et al.*, 2011).

S. putrefaciens Pdp11, bacteria aislada a partir de la piel de ejemplares de dorada sanos (Chabrellón *et al.*, 2005), fue seleccionada *in vitro* como potencial probiótico y ensayada con éxito en la fase de engorde del lenguado senegalés (Tapia-Paniagua *et al.*, 2012). Dentro de los efectos producidos en los ejemplares alimentados con este probiótico se encuentra un mayor crecimiento (Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2009; García de la Banda *et al.*, 2012) y beneficio en la composición corporal a nivel del hígado (García de la Banda *et al.*, 2010).

El objetivo del presente trabajo es estudiar la influencia nutritiva de la cepa probiótica *S. putrefaciens* Pdp11 sobre el alimento vivo administrado y su efecto en el crecimiento y la composición corporal (proteínas y lípidos) de larvas y postlarvas de lenguado senegalés.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los huevos fueron obtenidos de una puesta natural del stock de reproductores de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) del Instituto Español de Oceanografía en Santander (España). Tras incubación a $19 \pm 0,5^\circ\text{C}$ en tanques cilindrocónicos de 70 L, las larvas recién eclosionadas

fueron distribuidas en tanques de 250 L (40 larvas L⁻¹) por triplicado. La temperatura (18,6 ± 1,1°C), aireación y renovación de agua de mar estuvieron reguladas a lo largo de todo el ensayo. El protocolo de alimentación estuvo basado en Cañavate y Fernández-Díaz (1999), con las modificaciones descritas en García de la Banda *et al.* (2008). La coalimentación se realizó con metanauplios de *Artemia* enriquecidos (ORIGREEN, Skretting) y microencapsulado (Gemma Diamond, Skretting). El destete (Gemma Wean, Skretting) se inició el día 56 y finalizó el día 85. Se compararon dos regímenes alimenticios: Control y Pdp11 (probiótico).

El probiótico *S. putrefaciens* Pdp11 fue incubado diariamente a 22°C en placas de TSA salino (suplementado al 1,5% con NaCl), recogido y suspendido en una solución de PBS (pH=7.2). Posteriormente la solución (2,5x10⁷ufc mL⁻¹) se añadió a un eclosionador de *Artemia* (300 metanaupliosxmL⁻¹), 3 horas antes de su administración a las larvas. La concentración bacteriana fue determinada mediante el espectrofotómetro Hach DR/2500 (Loveland, Colorado, USA). La adición del probiótico se realizó entre los días 10 y 30 de cultivo en tres de las cuatro tomas diarias de alimento vivo.

Para la determinación del crecimiento en longitud y peso de los dos grupos experimentales (Control y Pdp11), se tomaron muestras de 30 larvas por réplica semanalmente. La longitud total se determinó mediante el proyector de perfiles Nikon V-12B (Japón) e ictiómetro desde el día 48 hasta el final del experimento. Seguidamente los ejemplares fueron lavados con agua destilada y secados a 60°C durante 48 horas para la obtención del peso seco. A partir del día 48 se determinó su peso húmedo.

Para los análisis bioquímicos se tomaron 3 muestras de *Artemia* control y suplementada con Pdp11, así como 9 ejemplares por tratamiento los días 23, 56, 87 y 117 de cultivo. Dichas muestras fueron lavadas con abundante agua destilada y conservadas a -80°C hasta su análisis posterior. Las proteínas y los lípidos fueron determinados por los métodos de Bradford (1976) y de Blight and Dyer (1959), modificado por Fernández-Reiriz *et al.*, (1989), respectivamente. El perfil de ácidos grasos en *Artemia* fue cuantificado mediante cromatografía de gases según Linares *et al.* (2001).

Con el fin de determinar la dispersión de tamaños se calculó el Coeficiente de Variación de Pearson. Tras comprobar la normalidad de los datos, se aplicó el test de ANOVA. En aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas se realizó un test de Tukey y post-hoc de Games-Howell ($\alpha = 0,05$). Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el software SPSS v19.

RESULTADOS

La bioencapsulación de *S. putrefaciens* Pdp11 en *Artemia* entre los días 10 y 30 de cultivo mejoró significativamente ($p < 0,05$) el crecimiento en longitud y peso de los ejemplares de lenguado desde el final de la metamorfosis (Fig. 1 y 2).

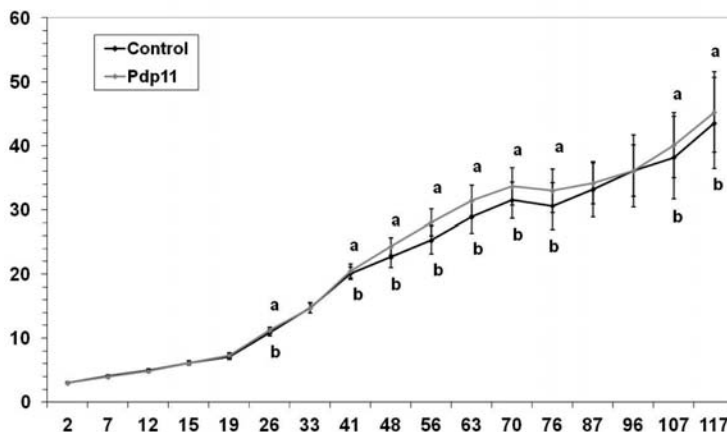


Figura 1.- Evolución temporal de la longitud (mm) en los ejemplares de lenguado senegalés alimentados con *Artemia* control y con *Artemia* suplementada con *S. putrefaciens* Pdp11 antes y después del destete. Las letras indican existencia de diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

Asimismo, los individuos alimentados con el pulso probiótico presentaron menor dispersión significativa en longitud (8,64% Pdp11; 12,89% Control) y peso (27,53% Pdp11; 36,10% Control) al finalizar el destete.

La supervivencia obtenida no presentó diferencias significativas con relación al régimen alimenticio establecido ($89,83 \pm 1,13\%$ Control; $88,05 \pm 2,27$ Pdp11).

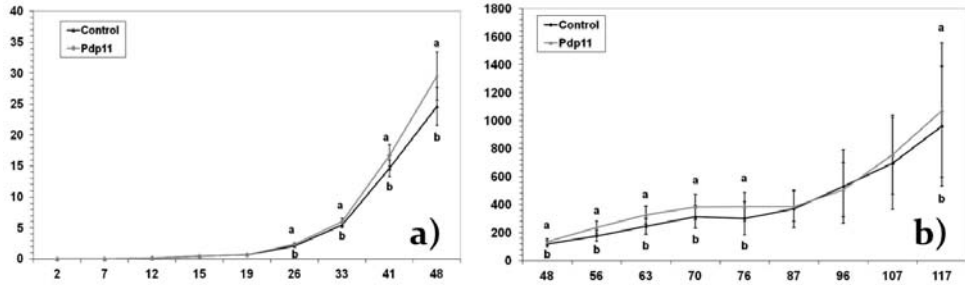


Figura 2.- Evolución temporal del peso (mg) seco a) y húmedo b) en los ejemplares de lenguado senegalés alimentados con *Artemia* control y con *Artemia* suplementada con *S. putrefaciens* Pdp11 antes del destete. Las letras indican existencia de diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

La *Artemia* enriquecida con *S. putrefaciens* Pdp11 mostró un mayor nivel de proteínas y lípidos. Estos últimos a nivel significativo, por lo que se vio modificada significativamente la relación proteínas-lípidos ($p < 0,05$) (Fig. 3).

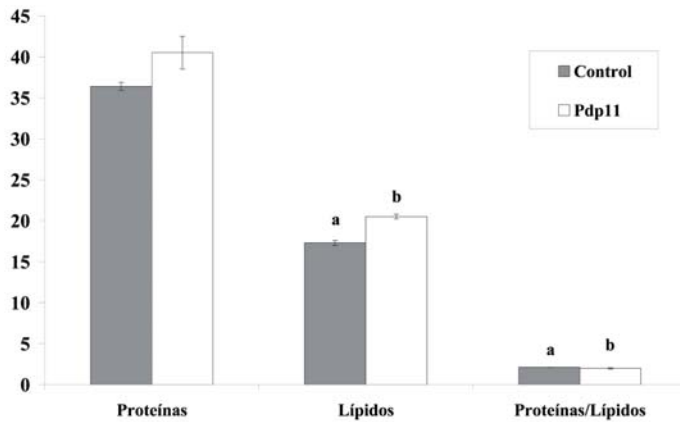


Figura 3.- Contenido en proteínas y lípidos totales (%) y relación Proteínas/Lípidos en *Artemia* Control y enriquecida con *S. putrefaciens* Pdp11. Las letras indican existencia de diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

El enriquecimiento nutricional de la *Artemia* con el probiótico, también quedó reflejado en la composición proximal de los ejemplares de *S. senegalensis* hasta finalizar el destete (día

87 de cultivo) (Fig. 4), si bien los cambios no fueron siempre significativos y parecen estar asociados a la edad de los ejemplares.

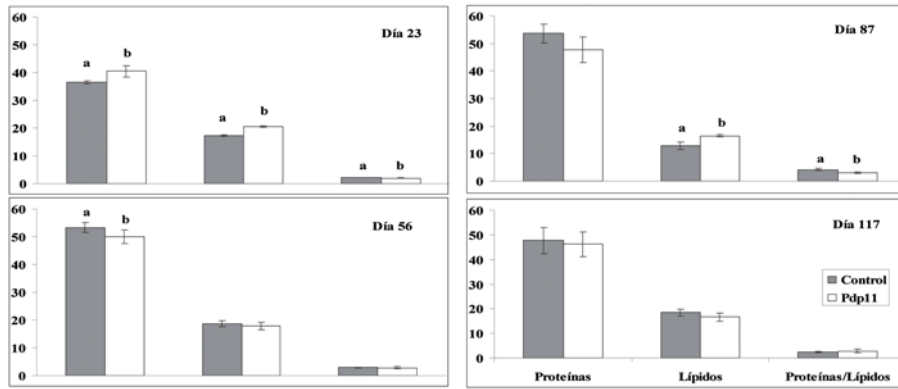


Figura 4.- Contenido en proteínas y lípidos totales (%) y relación Proteínas/Lípidos en los ejemplares de lenguado senegalés alimentados con *Artemia* control y *Artemia* suplementada con *S. putrefaciens* Pdp11 a lo largo de la experiencia (días 23, 56, 87 y 117 de cultivo). Las letras indican existencia de diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

El probiótico Pdp11 también modificó significativamente ($p < 0,05$) el perfil de ácidos grasos en *Artemia* (% total), incrementando los niveles de HUFA n-3 (17,8 Pdp11; 11,5 Control) y en particular el de DHA (10,83 Pdp11; 6,51 Control) y el del índice (DHA+EPA+ARA)/DHA/EPA/ARA (28,3 Pdp11; 17,9 Control). El ARA también incrementó de manera significativa con el probiótico (Tabla I).

Tabla I.- Perfil de ácidos grasos (%) de la Artemia Control y enriquecida con *S. putrefaciens* Pdp11.

Ácidos grasos	Artemia control	Artemia Pdp11
Contenido (ng µg-1)	92,9 ± 0,8	100,3 ± 0,9
% Ácidos grasos totales / Lípidos totales	53,6 ± 0,4	49,0 ± 0,8
Ácidos grasos (% total)		
14:0	12,1 ± 0,4a	0,7 ± 0,0b
14:1	0,59 ± 0,02	0,58 ± 0,03
15:0	0,76 ± 0,04a	0,33 ± 0,03b
16:0	9,80 ± 0,08a	12,86 ± 0,41b
16:1n-11	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,02
16:1n-9	0,56 ± 0,07	0,67 ± 0,02
16:1n-7	2,25 ± 0,05	2,16 ± 0,01
16:1n-5	0,90 ± 0,01a	0,80 ± 0,02b
17:0	1,58 ± 0,60	1,42 ± 0,01
16:2n-4	0,26 ± 0,05	0,25 ± 0,06
17:1	0,44 ± 0,26	0,64 ± 0,06
18:0	5,26 ± 0,03a	6,40 ± 0,01b
18:1n-9	14,9 ± 0,0a	17,6 ± 0,2b
18:1n-7	5,38 ± 0,03	5,26 ± 0,03
16,4	0,73 ± 0,31	0,07 ± 0,03
18:2n-6	7,21 ± 0,05a	12,20 ± 0,05b
18:3n-3	18,6 ± 0,4a	13,9 ± 0,1b
20:1n-11	0,10 ± 0,03a	0,45 ± 0,07b
20:1n-9	0,69 ± 0,03a	0,97 ± 0,08b
20:1n-7	0,11 ± 0,01	0,16 ± 0,02
18:4n-3	3,23 ± 0,02a	1,57 ± 0,05b
20:4n-6 (ARA)	2,49 ± 0,09a	2,83 ± 0,00b
22:1n-11	0,08 ± 0,02a	0,00 ± 0,00b
22:1n-9	0,15 ± 0,06	0,13 ± 0,07
22:1n-7	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,10
20:4n-3	0,76 ± 0,01a	0,52 ± 0,01b
20:5n-3 (EPA)	3,68 ± 0,05a	5,62 ± 0,01b
22:5n-3	0,59 ± 0,02a	0,85 ± 0,04b
22:6n-3 (DHA)	6,51 ± 0,27a	10,83 ± 0,60b
PUFA	44,1 ± 0,1a	48,6 ± 0,3b
SAFA	29,5 ± 0,3a	21,7 ± 0,4b
MUFA	26,5 ± 0,5a	29,7 ± 0,1b
Sum.W3	33,4 ± 0,1	33,3 ± 0,5
Sum.W6	9,71 ± 0,14a	15,03 ± 0,05b
Sum.W9	16,3 ± 0,1a	19,3 ± 0,1b
W3/W6	3,44 ± 0,04a	2,21 ± 0,04b
DHA/EPA	1,77 ± 0,05	1,93 ± 0,11
EPA/ARA	1,48 ± 0,07a	1,99 ± 0,00b
DHA/EPA/ARA	0,71 ± 0,04	0,68 ± 0,04
(DHA+EPA+ARA)/DHA/EPA/ARA ///		
//d(D(DHADHA+EPA+ARA)/DHA/EPA/ARA)	17,9 ± 0,8a	28,3 ± 0,6b
HUFA n-3	11,5 ± 0,3a	17,8 ± 0,6b
MUFA/HUFA n-3	2,30 ± 0,10a	1,67 ± 0,05b

DISCUSIÓN

El enriquecimiento de la *Artemia* con el probiótico *S. putrefaciens* Pdp11 entre los días 10 y 30 de cultivo aumentó significativamente el crecimiento de los ejemplares y redujo la heterogeneidad de tamaños. Estos efectos asociados a la adición de cepas probióticas, han sido observados en larvas de otras especies como la perca *Perca fluviatilis* (Mandiki *et al.*, 2010), la dorada *Sparus aurata* (Carnevali *et al.*, 2004; Suzer *et al.*, 2008) y la lubina *Dicentrarchus labrax* (Abelli *et al.*, 2009).

El valor nutritivo del alimento vivo e inerte es un factor clave para el buen desarrollo de los futuros alevines (Bell *et al.*, 2003; Morais *et al.*, 2004). En este experimento la *Artemia* enriquecida con la cepa probiótica *S. putrefaciens* Pdp11 presentó mayores niveles de proteína y lípidos, éstos últimos a nivel significativo. Esta mayor calidad nutritiva afectó a la composición bioquímica de las larvas promoviendo una mayor reserva energética asociada al mayor crecimiento obtenido. Los niveles de proteínas por el contrario, no siguieron una tendencia homogénea en respuesta a la adición del probiótico, de manera que los cambios parecen estar más asociados a la edad/estadio de desarrollo de los individuos.

El perfil de ácidos grasos (%) en la *Artemia* suplementada con probiótico presentó un mejor índice de calidad nutritiva. Especialmente relevante es el mayor nivel de DHA registrado, ácido graso esencial para el desarrollo neurológico de los especímenes (Izquierdo, 1999). Son de resaltar las diferencias significativas obtenidas en ácidos grasos como el oleico (C18:1n-9), linoleico (C18:2n-6) y linolénico (C18:3n-3) y aparentemente mayor actividad elongasa sobre los SAFAs encontrada en la *Artemia* probiótica. De cualquier modo se estima necesario completar estos resultados con el perfil de ácidos grasos de los ejemplares alimentados. Importante también el mayor aporte de araquidónico (C20:4n-6) de la *Artemia* Pdp11, ácido graso importante en el fosfatidilinositol y como precursor de eicosanoides esenciales en la respuesta inmune y en la osmorregulación.

CONCLUSIONES

La bioencapsulación de *S. putrefaciens* Pdp11 en *Artemia* entre los días 10 y 30 de cultivo, mejora la calidad nutritiva de la presa viva suministrada al lenguado, promoviendo la modificación de la composición en proteínas y lípidos y el mayor crecimiento de los ejemplares. Este efecto probiótico se mantiene hasta el final de la experiencia (día 117).

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el PN de Lenguado JACUMAR. Los autores quieren expresar su agradecimiento a los técnicos y ayudantes de la Planta de Cultivos El Bocal del C.O. de Santander.

BIBLIOGRAFÍA

- Abelli L., Randelli E., Carnevali O. y Picchiatti S. 2009. Stimulation of Gut Immune System by Early Administration of Probiotic Strains in *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata*. *Annals of the York Academic of Sciences* 1163: 340-342
- Alves-Martins D., Engrola S., Morais S., Bandarra, N., Coutinho J., Yúfera M. y Conceicao L.E.C. 2011. Cortisol response to air exposure in *Solea senegalensis* post-larvae is affected by dietary arachidonic acid to eicosapentaenoic acid ratio. *Fish Physiology and Biochemistry* 37(4): 733-743
- Avella M.A., Olivotto I., Silvi S., Ribocco C., Cresci A., Palermo F., Polzonetti A. y Carnevali O. 2011. Use of *Enterococcus faecium* to improve common sole (*Solea solea*) larviculture. *Aquaculture* 315(3-4): 384-393.
- Bell J.G., McEvoy L.A., Estévez A., Shields R.J. y Sargent J.R. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture* 227: 211-220.
- Bligh E.G. y Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacy* 37: 911-917.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cañavate J.P. y Fernández-Díaz C. 1999. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture* 174: 255-263.
- Cañavate J.P. 2005. Opciones del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858 para diversificar la acuicultura marina. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 21(1-4): 147-154.
- Carnevali O., Zamponi M.C., Sulpizio R., Rollo A., Nardi M., Orpianesi C., Silvi S., Caggiano

- M., Polzonetti A.M. y Cresci A. 2004. Administration of Probiotic Strain to Improve Sea Bream Wellness during Development. *Aquaculture International* 12: 377-386.
- Carnevali O., de Vivo L., Sulpizio R., Gioacchini G., Olivotto I., Silvi S. y 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* 258: 430-438.
- Chabrilón M., Rico R.M., Balebona M.C. y Moriñigo M.A. 2005. Adhesion to sole, *Solea senegalensis* Kaup, mucus of microorganisms isolated from farmed fish, and their interaction with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Journal of Fish Diseases* 28: 229-237.
- Conceicao L.E.C., Ribeiro L., Engrola S., Aragao C., Morais S., Lacuisse M., Soares F. y Dinis M.T. 2007. Nutritional physiology during development of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 268: 64-81
- Dámaso-Rodríguez M.L., Pousao-Ferreira P., Ribeiro L., Coutinho J., Bandarra N.M., Gavaia P.J., Narciso L. y Morais S. 2010. Lack of essential fatty acids in live feed during larval and post-larval rearing: effect on the performance of juvenile *Solea senegalensis*. *Aquaculture International* 18: 741-757.
- Dimitroglou A., Merrifield D.L., Carnevali O., Picchiatti S., Avella M., Daniels C., Güroy D. y Davies S.J. 2011. Microbial manipulations to improve fish health and production - A Mediterranean perspective. *Fish and Shellfish Immunology* 30: 1-16.
- Dinis M.T., Ribeiro L., Soares F. y Sarasquete C. 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and in Portugal. *Aquaculture* 176(1-2): 27-38.
- Fernández-Reiriz M.J., Pérez-Camacho A., Ferreira M.J., Blanco J., Planas M., Campos M.J. y Labarta U. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.
- García de la Banda I., Lobo C., Martín I., Moriñigo M.A., Arijo S., León-Rubio J.M., Tapia-Paniagua S., Chabrilón M., Pazos G., Linares F., Moreno-Ventas X. y Canteras J.C. 2008. Pdp11 probiotic use on *Solea senegalensis* (Kaup) larval and postlarval culture. Libro de resúmenes del IV Workshop of Cultivation of Sole. 11-14 Noviembre Universidad del Algarve Faro (Portugal): 19.
- García de la Banda I., Lobo C., León-Rubio J.M., Tapia-Paniagua S., Balebona M.C., Moriñigo M.A., Moreno-Ventas X., Lucas M.L., Linares F., Arce F. y Arijo S. 2010. Influence of two closely related probiotics on juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup, 1858) performance and protection against *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida*. *Aquaculture* 306: 281-288.

- García de la Banda I., Lobo C., Chabrilón M., León-Rubio J.M., Arijó S., Pazos G., Lucas M.L. y Moriño M.A. 2012. Influence of dietary administration of a probiotic on Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup, 1858) growth, body composition and resistance to *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida*. *Aquaculture Research* 43(5): 662-669.
- Gatesoupe F.J. 2005. Probiotics and prebiotics for fish culture, at the parting of the ways. *Aqua Feeds: Formulation & Beyond* 2: 3-5.
- Gavaia P.J., Dinis M.T. y Cancela M.L. 2002. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 211(1-4): 305-323.
- Gisbert E., Fernández I. y Estévez A. 2008. Nutrición y Morfogénesis: Efecto de la Dieta sobre la Calidad Larvaria en Peces. Libro de Resúmenes del IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola 24-27 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey.: 46-78
- Izquierdo M.S., 1999. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* 2: 183-191
- Linares F., Peleteiro J.B. y Adrián-Echabe J. 2001. Ongrowing and biochemical composition of blackspot seabream (*Pagellus bogavareo*) juveniles fed with different dry food. *European Aquaculture Society Especial Publication* 30: 318-321.
- Mandiki S.N.M., Milla S., Wang N., Blanchard G., Djonkack T., Tanascaux S. y Kestemont P. 2011. Effects of probiotic bacteria on growth parameters and immune defence in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. larvae under intensive culture conditions. *Aquaculture Research* 42: 693-703
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A., Davies S.J., Baker R.T.M., Bogwald J., Castex M. y Ringo E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302(1-2): 1-18.
- Morais S., Narciso L., Dores E. y Pousao-Ferreira P. 2004. Lipid enrichment for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile. *Aquaculture International* 12: 281-298
- Sáenz de Rodrigáñez M., de Oña C., Alarcón F.J., Martínez M.I., Díaz M. y Moyano F.J. 2005. Crecimiento y enzimas digestivas de larvas de *Solea senegalensis* Kaup, 1858 alimentadas con piensos comerciales. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 21(1-4): 105-113.
- Sáenz de Rodrigáñez M.A., Díaz-Rosales P., Chabrilón M., Smidt H., Arijó S., Rubio J.M.L., Alarcón F.J., Balebona M.C., Moriño M.A., Cara J.B. y Moyano F.J. 2009. Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality

- of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). *Aquaculture Nutrition* 15: 177-185.
- Suzer C., Coban D., Kamaci H.O., Saka S., Firat K., Otgucuoglu O. y Kucuksari H. 2008. *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 280: 140-145.
- Tapia-Paniagua S.T., Díaz-Rosales P., León-Rubio J.M., García de la Banda I., Lobo C., Alarcón F.J., Chabrilón M., Rosas-Ledesma P., Varela J.L., Ruíz-Jarabo I. y Mancera J.M. 2012. Use of the probiotic *Shewanella putrefaciens* Pdp11 on the culture of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) and gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.). *Aquaculture International* <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-012-9509-5>
- Tihn N.T.N., Dierckens K., Sorgeloos P. y Bossier P. 2008. A Review of the Functionality of Probiotics in the Larviculture Food Chain. *Marine Biotechnology* 10:1-12.
- Vine N.G., Leukes W.D. y Kaiser H. 2006. Probiotics in Marine Larviculture. *FEMS Microbiology Review* 30: 404-427.

Sobre la presencia de puestas de huevos del calamar diamante (*Thysanoteuthis rhombus*, Troshel 1857) en el Atlántico este subtropical (Islas Canarias). ¿Un nuevo recurso pesquero para Canarias?

Escánez¹ A., Riera² R., Tobeña¹ M., González³ Á.F., Guerra³ Á.

¹Departamento de Biología Animal, Universidad de La Laguna, Avenida Astrofísico Francisco Sánchez s/n, 38206 La Laguna, Tenerife, España.

²Centro de Investigaciones medioambientales del Atlántico (CIMA SL), Arzobispo Elías Yanes 44, 38206 La Laguna, Tenerife, España.

³Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC), Eduardo Cabello 6, 36208 Vigo, España. aescanez@msn.com

RESUMEN

El calamar diamante (*Thysanoteuthis rhombus*) es una especie de hábitos oceánicos, que realiza migraciones entre las capas profundas mesopelágicas (1.000 m) y superficiales, durante la noche. Alcanza tallas considerables de hasta 1 m de longitud de manto y pesos superiores a los 20 kg. Esta especie tiene interés pesquero y en la actualidad la principal pesquería de esta especie se localiza en el Mar del Japón, donde se capturan cantidades superiores a 6.000 toneladas por año. Sin embargo las zonas de reproducción de esta especie son poco conocidas en la actualidad, sólo han sido registradas 29 puestas en total, en Jamaica, Japón e Indonesia. Estas puestas parecen acontecer en superficie en zonas tropicales y subtropicales de todos los océanos del mundo. En este trabajo se han recopilado datos oportunistas sobre avistamientos de puestas de huevos del calamar rombo en aguas de las Islas Canarias occidentales (Tenerife, La Gomera, El Hierro y La Palma). Un total de 16 puestas han sido registradas, fotografiadas y georeferenciadas durante los años 2000 y 2012. Estos datos revelan la existencia de una importante área de reproducción para el calamar rombo en las Islas Canarias y por tanto una

zona potencial para su pesca. Se presentan aquí datos preliminares para el desarrollo de una pesquería artesanal sobre esta especie en Canarias, así como las técnicas necesarias para ello.

INTRODUCCIÓN

El calamar diamante o rombo (*Thysanoteuthis rhombus*), es la única especie representante de la familia Thysanoteuthidae. Esta especie cosmopolita se distribuye en aguas tropicales y subtropicales de todos los océanos del mundo. Llega a alcanzar tamaños de hasta 1 m de longitud dorsal de manto y superar los 20 kg de peso. Presenta un comportamiento migrador, permaneciendo durante el periodo diurno en capas mesopelágicas (200-1.000 m) y emprendiendo durante la noche migraciones hasta las capas epipelágicas donde se alimenta y reproduce.

El ciclo de vida de esta especie abarca un periodo de tiempo de un año, siendo maduros sexualmente entre los 6 y 8 meses de vida, cuando exceden los 250 mm de LDM en los machos y los 500 mm en las hembras (Nigmatullin *et al.* 1995). Las puestas de *T. rhombus* son cilíndricas, largas, alcanzando entre los 110 mm y los 300 mm de longitud y de consistencia gelatinosa. Éstas se encuentran flotando a la deriva en capas superficiales a pocos metros de profundidad. Estas masas de huevos contienen entre 35.000 y 75.000 huevos, que se disponen formando dos filas enrolladas en forma de espiral, con extremos romos (Nigmatullin *et al.* 1995) (Fig. 1). Esta morfología tan peculiar ha llevado con frecuencia a que sean confundidas con pirosómidos o con otro tipo de plancton gelatinoso (Berrill, 1966).

Hasta la fecha muy pocas puestas han sido descritas en el mundo, apareciendo un total de 29 puestas en la literatura. En el océano Pacífico, las puestas de *T. rhombus* han sido observadas en el Mar del Japón, islas de Okinawa, en las costas de la isla de Honshu, Islas Bonin, Islas Izu y Sulawesi (Indonesia) (Misaki & Okutani, 1976; Suzuki *et al.* 1979; Billings *et al.* 2000, Miyahara *et al.* 2006).

En el Mar Mediterráneo entre los años 1995 y 2000 se han encontrado cuatro puestas (Guerra & Rocha, 1997). En el océano Atlántico se han observado puestas en Jamaica y en las Islas Canarias cuatro puestas (Aiken *et al.* 2007; Guerra *et al.* 2002). Estas fueron las primeras observaciones de puestas de *T. rhombus* para las Islas Canarias, si bien, se tenían datos previos sobre la existencia de adultos de esta especie en las islas debido a pescas accidentales por parte de pescadores artesanales de las islas (Pulido-López & López-Pinto, 2002; Ikeda *et al.* 2003; Marcic *et al.* 2008; Bello, 2009; Salvat-Torres *et al.* 2009).

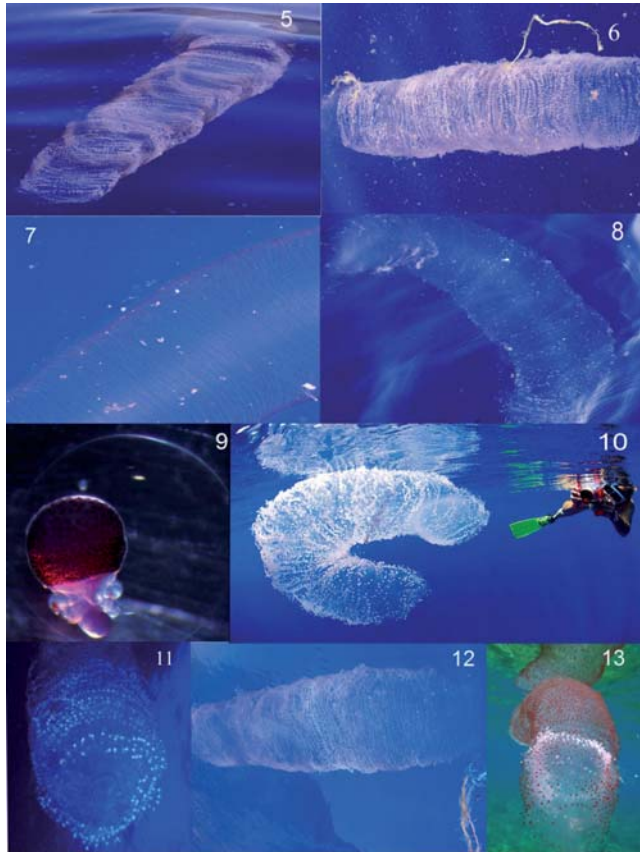


Figura 1.- Fotografías de algunas masas de huevos de *T. rhombus* observadas en aguas de las Islas Canarias. Los números hacen referencia a la tabla I.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha basado en la recopilación de avistamientos oportunistas de las masas de huevos de *T. rhombus* en las Islas Canarias. La información fue obtenida de varias fuentes, incluyendo avistamientos realizados por clubes locales de buceo, registros durante campañas de investigación sobre la población de cetáceos y datos previos publicados en la literatura. Todos los avistamientos fueron acompañados de una fotografía con la suficiente calidad para ser clasificada sin lugar a dudas como una masa de huevos de *T. rhombus*. Además se registraron los datos de localización geográfica, fecha, color de la masa de huevos, y temperatura superficial del mar.

RESULTADOS

Un total de 16 masas de huevos fueron registradas entre los años 2000 y 2010 (Tabla I). Sin considerar el año, el máximo número de avistamientos se realizó en los meses de verano y los primeros meses de otoño. Los meses con mayor número de avistamientos fueron mayo y octubre. Las islas con mayor número de avistamientos de masas de huevos fueron Tenerife con 11 puestas y El Hierro con 5 puestas. La presencia de masas de huevos coincide con la época de temperaturas más cálidas en el mar de Canarias, que se extiende desde el mes de mayo hasta finales del mes de octubre. La temperatura superficial del mar abarca desde los 20°C a los 24°C en el mes de septiembre, disminuyendo a partir del mes de noviembre hasta principios del mes de mayo, alcanzando temperaturas mínimas de 18°C. No se registraron puestas en esta época fría. Estos datos revelan la importancia de las Islas Canarias como área de reproducción del calamar diamante, en el Atlántico este subtropical.

Tabla I.- Fecha, Lat.: latitud, Long.: longitud, N° puestas: número de puestas, Temp °C.: temperatura, color, localidad y autor, de las puestas de *T. rhombus* registradas en las Islas Canarias (EH: El Hierro, TF: Tenerife, LG. La Gomera).

N° id.	Fecha	Lat.	Long.	Isla	N° de puestas	Temp. (°C)	Color	Localidad	Autor
1	Oct. 2000	27°43'N	18°9.5'W	EH	1	-	Sin datos	Punta Orchilla	Guerra <i>et al.</i> 2002
2	Oct. 2000	28°01'N	16°42'W	TF	1	-	Sin datos	Punta Rasca	Guerra <i>et al.</i> 2002
3	Oct. 2000	28°18'N	16°53'W	TF	1	-	Sin datos	Punta Vizcaíno	Guerra <i>et al.</i> 2002
4	Oct. 2000	28°17'N	16°31'W	TF	1	-	Sin datos	Montaña Pelada	Guerra <i>et al.</i> 2002
5	May.2006	28°01'N	17°11'W	LG	1	22,8	Rosados	Playa Santiago	Presente trabajo
6	Mayo 2007	27°40'N	18°03'W	EH	1	20,0	Blancos	Mar de las Calmas	Presente trabajo
7	Mayo 2007	27°40'N	18°02'W	EH	1	20,0	Blancos	Mar de las Calmas	Presente trabajo
8	Mayo 2008	27°38'N	18°01'W	EH	1	20,5	Rosados	Mar de las Calmas	Presente trabajo
9	Julio 2010	28°21'N	16°22'W	TF	1	22,1	Rosados	Candelaria	Presente trabajo
10	Julio 2010	28°10'N	16°57'W	TF	3	22,1	Blancos	Canal TF-LG	Presente trabajo
11	Julio 2010	28°11'N	16°25'W	TF	1	22,1	Rosados	Las Eras	Presente trabajo
12	Ago.2010	28°20'N	16°55'W	TF	2	23,0	Blancos	Punta Teno	Presente trabajo
13	Oct.2010	28°02'N	16°32'W	TF	1	23,7	Rojos	El Médano	Presente trabajo

DISCUSION

El calamar diamante presenta un periodo de puesta durante todo el año en zonas tropicales, pero su reproducción en aguas subtropicales está restringida a los periodos más cálidos del mar (verano-principios de otoño) y áreas con fuertes corrientes cálidas, como las corriente de Agulhas y Kuroshio (Nigmatullin *et al.* 1995). Nuestras observaciones coinciden con este patrón, dado que Canarias está enfrentada a la corriente de Canarias y en sus aguas se forman fenómenos oceanográficos mesoescalares como remolinos y estelas cálidas a sotavento de las islas con mayor altitud (Barton *et al.* 1998).

La pesca de ejemplares adultos de calamar diamante en Canarias por parte de pescadores artesanales es anecdótica. Esta ocurre generalmente durante la pesca de otras especies de calamares como los omastréfidos *Todarodes sagittatus* y *Omastrephes bartrami*. Pese a la escasa captura de *T. rhombus* en Canarias, esta especie está considerada como de interés pesquero por los órganos de gobierno locales (Baéz & Marrero, 2007). A pesar de la escasa frecuencia de captura de *T. rhombus* por la flota artesanal de las islas, la presencia de hembras maduras en el área queda comprobada en este estudio. Esto sugiere que las Islas Canarias son un área de reproducción para esta especie.

La distinta coloración de las masas de huevos encontradas en Canarias varía entre el rojo y el blanco, esto está relacionado con el diferente estado de desarrollo embrionario de las misma. El color blanco indica un estado avanzado de la puesta, donde todos los huevos han eclosionado. Mientras que colores rosas o rojizos indican un estado embrionario temprano. En Canarias se han encontrado puestas en diferentes estados de desarrollo lo que indica que la especie pone sus huevos en aguas del archipiélago canario y que sus larvas se encuentran en las mismas.

Una de las razones de la escasa captura de *T. rhombus* en el archipiélago, podría ser debido a la técnica de pesca empleada para la captura de especies de omastréfidos por los pescadores artesanales. Esta pesca se realiza durante la noche, utilizando como atrayente focos de luz y una línea manual con una potera terminal (jigging) pescando en superficie hasta una profundidad máxima de 50 m.

En otras regiones del mundo donde han sido observadas puestas de *T. rhombus*, esta especie soporta una importante pesquería comercial. Por ejemplo en el Mar del Japón (Isla de Honshu) esta pesquería se ha desarrollado desde la década de los sesenta, y las capturas han ascendido hasta las 6.000 toneladas en el año 2001 (Bower & Miyahara, 2005). El rápido desarrollo de esta pesquería fue posible gracias a la innovación de las artes de pesca empleadas.

Estas nuevas artes de pesca como el “*Taru-nagashi*” y el “*Hata-nagashi*”, fueron especialmente diseñadas para la captura de calamar diamante. Estas artes de pesca son utilizadas durante el día y consisten en líneas de deriva de unos 500 m de longitud, en unos de sus extremos se colocan 3 poteras (jigs) de unos 30 cm de longitud, cebadas. Sobre ellas se coloca una luz azul estroboscópica, para la atracción de los calamares. En el otro extremo de la línea se coloca una boya de cabecera con señalización visual. Cada pescador despliega un total de 30 artes de pesca, sobre fondos comprendidos entre 1000 y 1500 m.

Este método de pesca ha sido introducido satisfactoriamente en otras áreas de Japón, como en las Islas Bonin (archipiélago Ogasawara) (Bower & Miyahara 2005). La búsqueda de nuevos caladeros de esta especie ha traspasado las fronteras japonesas y se han realizado estudios piloto, bajo la supervisión de la Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (JICA), en países como Jamaica y República Dominicana, donde actualmente se desarrolla una pesca artesanal a pequeña escala de dicha especie (Aiken *et al.* 2007, Herrera *et al.* 2011).

En Jamaica el método utilizado para encontrar caladeros de calamar diamante, se basó en la búsqueda previa de masas de huevos del calamar, y en las zonas con mayor número de avistamientos se procedió a desplegar el arte de pesca “*Taru-nagashi*”. De esta forma se consiguió pescar por primera vez al calamar diamante en Jamaica. En la República Dominicana, la pesca del calamar diamante también fue introducida bajo supervisión japonesa en el año 2001 y actualmente esta pesquería está considerada una de las más prometedoras en los próximos años para la República Dominicana (Herrera *et al.* 2011).

Considerando los avistamientos de las masas de huevos de *T. rhombus* realizados y la existencia de capturas previas de ejemplares adultos de calamar diamante, las Islas Canarias parece un buen candidato para el desarrollo de una pesquería comercial de esta especie. La infraestructura pesquera ya presente en las islas favorece en gran medida esta posibilidad. Sin embargo el desarrollo de esta pesquería requiere la adopción de las artes empleadas por los pescadores japoneses, como el “*Taru-nagashi*”. El desarrollo de la pesquería del *T. rhombus* podría disminuir la presión existente sobre los sobreexplotados recursos costeros en el archipiélago canario, con un gran número de pequeñas poblaciones de pescadores distribuidas en toda su costa (Tuya *et al.* 2007). La pesquería potencial de *T. rhombus* en las Islas Canarias puede desarrollarse en profundidades batiales que se encuentran a pocas millas de la costa debido al origen volcánico de las islas y a su escasa plataforma submarina, especialmente de las islas de Tenerife, La Gomera, El Hierro y La Palma.

La posibilidad del desarrollo de una pesquería a pequeña escala de *T. rhombus* necesita de estudios previos y de pesquerías experimentales, así como de estudios científicos y económicos, siguiendo las siguientes consideraciones: a) la necesidad de evaluar si esta pesquería

es sostenible a corto y largo plazo, b) la necesidad de evaluar el impacto de esta pesquería, sobre el ecosistema, especialmente sobre las poblaciones residentes de cetáceos como calderones tropicales, calderones grises y cachalotes que podrían competir por este recurso y que actualmente soportan una actividad económica relacionada con el avistamiento turístico de ballenas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aiken K., Kumagai N., Yasuda T., Jones I. 2007. The egg race method of identifying diamondback squid fishing grounds in Jamaican waters. *59th Gulf and Caribbean Fisheries Institute*: 267-272.
- Báez A., Marrero M.F. 2007. *Aplica 2. Manual de identificación de las principales especies pesqueras. Excmo. Cabildo Insular de Gran Canaria.*
- Barton E.D., Arístegui J., Tett P., Cantón M., García-Braun J., Hernández León S., Nykjaer L., Almeida C., Almunia J., Ballesteros S., Basterretxea G., Escánez J., García-Weill L., Hernández-Guerra A., López-Laatzén F., Molina R., Montero M.F., Navarro-Pérez E., Rodríguez J.M., Van Lenning K., Vélez H., Wild K. 1998. The transition zone of the canary current upwelling region. *Progress in Oceanography* 41: 455-504. doi: 10.1016/S0079-6611(98)00023-8
- Bello, G. 2009. On the presence of *Thysanoteuthis rhombus* (Cephalopoda: Thysanoteuthidae) in the Adriatic Sea. *Marine biodiversity records* 2:1-2. doi: 10.1017/S1755267209990819.
- Berrill N.J. 1966. Caption of Pyrosoma. In: Berrill N.J. (ed). *The life of Ocean (Our Living World of Nature)*. McGraw-Hill Book Company, New York, p. 65.
- Billings V.C., Sullivan M., Vine H. 2000. Sighting of *Thysanoteuthis rhombus* egg mass in Indonesian waters and observations of embryonic development. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80:1139-1140.
- Bower J.R., Miyahara K. 2005. The diamond squid (*Thysanoteuthis rhombus*): A review of the fishery and recent research in Japan. *Fisheries Research* 73:1-11. doi: 10.1016/j.fishres.2005.01.020ç
- Guerra A., Rocha F. 1997. On a floating egg mass of the diamond shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* (Cephalopoda: Thysanoteuthidae) in the western Mediterranean. *Iberus* 31: 125-130.
- Guerra Á., González A.F., Rocha F.J., Sagarminaga R., Cañadas A. 2002. Planktonic egg masses of the diamond-shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* in the eastern Atlantic

- and the Mediterranean. *Journal of Plankton Research* 4:333-338. doi: 10.1093/plankt/24.4.333
- Herrera A., Betancourt L., Silva M., Lamelas P., Melo A. 2011. Coastal fisheries of the Dominican Republic. In: S. Salas, R. Chuenpagdee, A. Charles and J.C. Seijo (eds). *Coastal fisheries of Latin America and the Caribbean*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 544. Rome, FAO. pp. 175–217.
- Ikeda Y., Onaka S., Kidokoro H., Sakamoto W. 2003. Notes on an unusual catch of the juvenile diamond-shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* in Pacific waters off southern Hokkaido. *Fisheries Science* 69: 660-662. doi: 10.1046/j.1444-2906.2003.00671.x
- Marcic Z., Caleta M., Buj I., Mrakovcic M., Mustafic P., Zanella D., Dulcic J. 2008. First record of *Thysanoteuthis rhombus* (Cephalopoda: Thysanoteuthidae) in the Adriatic Sea. *Marine Biodiversity Records* 2: 1-3. doi: 10.1017/S1755267208000146
- Misaki H., Okutani T. 1976. Studies on early life history of decapodan Mollusca 6. An evidence of spawning of an oceanic squid, *Thysanoteuthis rhombus* Troschel, in the Japanese waters. *Venus* 35: 211-213.
- Miyahara K., Fukui K., Nagahama T., Ohatani T. 2006. First record of planktonic egg masses of the diamond squid, *Thysanoteuthis rhombus* Troschel, in the Sea of Japan. *Plankton and Benthos Research Journal* 1: 59-63.
- Nigmatullin M.C., Arkhipkin A.I., Sabirov M.R. 1995. Age, growth and reproductive biology of diamond-shaped squid *Thysanoteuthis rhombus* (Oegopsida: Thysanoteuthidae). *Marine Ecology Progress Series* 124: 73-87.
- Pulido-López P.C., López-Pinto Y.A. 2002. Primer registro del calamar diamante *Thysanoteuthis rhombus* Troschel, 1857 (Cephalopoda: Teuthida: Oegopsina) en el Mar Caribe colombiano. *Boletín de investigaciones marinas y costeras* 31: 239-241.
- Salvat-Torres H., Cabrejas-Ávila L., Guimaraes-Bermejo M. 2009. Nuevo registro para los moluscos marinos de Cuba: calamar diamante *Thysanoteuthis rhombus* (Mollusca: Cephalopoda). *Revista de Investigaciones Marinas* 30(3): 237-239.
- Suzuki S., Misaki H., Okutani T. 1979. Supplementary note on floating egg mass of *Thysanoteuthis rhombus* Troschel in Japan – The first underwater photography. *Venus* 38: 153-155.
- Tuya F., Boyra A., Sánchez-Jerez P., Haroun R.J. 2005. Multivariate analysis of the benthodemersal ichthyofauna along soft bottoms of the Eastern Atlantic: comparison between unvegetated substrates, seagrass meadows and sandy bottoms beneath sea-cage fish farms. *Marine Biology* 147: 1229-1237.



Sobre la presencia de puestas de huevos del calamar diamante (*Thysanoteuthis rhombus*, Troshel 1857) en el Atlántico este subtropical (Islas Canarias).



¿Un nuevo recurso pesquero para Canarias?

Escánez A. (1), Riera R. (2), Tobeña M. (1), González A.F. (3), Guerra A. (3),
 1. Departamento de Biología Animal, Universidad de La Laguna, Avenida Astrofísico Francisco Sánchez s/n, 38206, La Laguna, Tenerife, España.
 2. Centro de Investigaciones medioambientales del Atlántico (CIMA-SL), Arzobispo Elias Yanes, 44, 38206 La Laguna, Tenerife, España.
 3. Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC), Eduardo Cabello, 6, 36208 Vigo, España.
 E-mail: aescanez@msn.com

Nº	Fecha	Localidad	Temperatura (°C)	Salinidad (psu)	Profundidad (m)	Estado	Observaciones
1	12/01/2010	27°42'N 14°23'W	20.1	35.8	100	1	Puerto Dársena
2	13/01/2010	28°19'N 14°12'W	19.1	35.8	100	1	Puerto Ancha
3	03/02/2010	28°33'N 14°19'W	19.1	35.8	100	1	Puerto Victoria
4	04/02/2010	28°19'N 14°19'W	19.1	35.8	100	1	Muelle Pichas
5	04/02/2010	28°19'N 14°19'W	19.1	35.8	100	1	Puerto Dársena
6	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
7	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
8	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
9	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
10	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
11	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
12	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
13	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar
14	04/02/2010	27°46'N 14°19'W	20.1	35.8	100	1	Muelle Calvar

RESUMEN
 La presencia de puestas de huevos del calamar diamante en aguas de Canarias entre los meses de mayo y octubre es habitual. El registro de un total de 17 puestas observadas en las islas occidentales de Canarias, sitúan a las islas como una importante área de reproducción de esta especie en el Atlántico Este Subtropical. Este fenómeno aumenta la probabilidad de desarrollar una pesquería específica y artesanal sobre la especie, introduciendo en las islas artes específicamente desarrolladas para esta especie.

INTRODUCCIÓN
 El calamar diamante (*Thysanoteuthis rhombus*) es una especie de hábitos oceánicos, que realiza migraciones entre las capas profundas mesopelágicas (1,000 m) y superficiales, durante la noche. Alcama tallas considerables de hasta 1 m de longitud de manto y pesos superiores a los 20 kg (Guerra, 1992). Esta especie tiene interés pesquero y en la actualidad la principal pesquería de esta se localiza en el Mar del Japón, donde se capturan cantidades superiores a 6,000 toneladas por año. Sin embargo las zonas de reproducción de esta especie son poco conocidas en la actualidad, sólo han sido registradas 29 puestas en total, en Jamaica, Japón e Indonesia. Estas puestas parecen acontecer en superficie en zonas tropicales y subtropicales de todos los océanos del mundo.

MATERIAL Y MÉTODOS
 En este trabajo se han recopilado datos oportunistas sobre avistamientos de puestas de huevos del calamar diamante en aguas de las islas Canarias occidentales (Tenerife, La Gomera, El Hierro y La Palma). Un total de 17 puestas han sido registradas, fotografiadas y georreferenciadas durante los años 2000 y 2012.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN
 Estos datos revelan la existencia de una importante área de reproducción para el calamar diamante en las islas Canarias, si comparamos el número de puestas registradas con otras regiones del mundo. La época de reproducción de esta especie en Canarias según nuestros datos abarca desde mayo a noviembre, cuando las aguas alcanzan temperaturas superiores a los 20 °C. La aparición de puestas así como capturas accidentales de ejemplares de *T. rhombus* acontecidas en Canarias durante la pesca de calamares omastreífid (*Ommastrephes bartramii*) es un indicio sólido de la presencia de adultos en esta zona. El seguimiento de estas puestas conjuntamente con la introducción de artes de pesca específicas para el calamar diamante desarrolladas en Japón, como el "Tsurunigoshi" y el "Hata-nogoshi" (Fig. 4) en zonas con alta densidad de avistamientos de puestas, han conseguido encontrar nuevos caladeros de esta especie, como ha sucedido en islas de Okinawa (Japón), islas Bonin (Japón), Sur del Mar de China (Filipinas) y Jamaica (Bower et al. 2005, Dickson et al. 2007, Allen et al. 2007), esta técnica para la búsqueda de nuevos caladeros de *T. rhombus* ha sido llamada "El método del rastreo de huevos". Estas artes de pesca consisten en palanques verticales u horizontales provistos de doble corona y cebo, así como de floats retroiluminados azules como atrayentes. Estas se desplazan durante el día a profundidades de entre 500 y 100 m de profundidad. Si bien las profundidades de pesca de esta especie está sujeta a las temperaturas y salinidades que se encuentran en profundidad. En el Mar del Japón las mayores CPUEs se dan cuando a 100 m de profundidad la temperatura es de 17-19 °C y en las islas de Okinawa las mayores CPUEs se concentran a la profundidad de la capa de mínima salinidad y temperaturas de 14-15 °C (Bower et al. 2009). Las islas Canarias a la luz de estos datos parecen candidatas ideales para la introducción de dichas artes de pesca por la flora artesanal de las islas, lo que conlleva una oportunidad de diversificación de la pesca

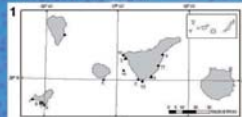


Figura 1: datos sobre localización geográfica, fecha, color, temperatura, de las avistamientos de las puestas de huevos de *T. rhombus*.



Figura 2: diagrama de barras representando el número de puestas acumuladas por mes y las temperaturas medias mensuales del mar en La Laguna.



Figura 3: algunas fotografías de puestas de *T. rhombus*. Su numeración está relacionada con la Tabla 1.

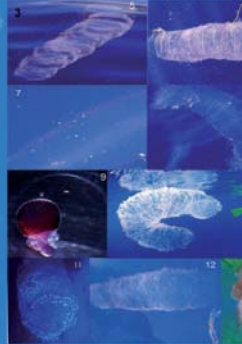


Figura 4: A) Esquema de el arte de pesca "Tsurunigoshi". B) Boya cabezona con iluminación azul; C) poteras labradas; D) boya de cebo; E) Esquema del arte de pesca "Hata-nogoshi"; F) boya cabezona; G) boya secundaria; H) línea madre; I) poteras labradas.

Representación: A. Escánez, B. Riera, C. Tobeña, D. González, E. Guerra. 2012. Sobre la presencia de puestas de huevos del calamar diamante (*Thysanoteuthis rhombus*, Troshel 1857) en el Atlántico este subtropical (Islas Canarias). *Boletín de la Asociación Española de Acuicultura*, 41(1): 679-684.

Utilização de sequências do DNA mitocondrial (citocromo oxidase I – COI) em filogenia de cefalópodes

Lopes¹ J.C.O., Mendes¹ C., Silva¹ R., Sanjuan² A.

¹Instituto Politécnico de Viana do Castelo – ESA, Mosteiro de Refóios – 4990-706, Ponte de Lima, Portugal.

²Fac. de Ciencias-Biología, Univ. de Vigo, Vigo 36200, Spain

juliocesar@esa.ipv.pt

SUMMARY

The class Cephalopoda is one of nine classes of the Phylum Mollusca and comprises more than 1000 species, among which the squid occupy an important position in almost all oceans due to its value, both the ecological level as commercial. Species within the genus *Illex* constitute a major economic resource in the entire Atlantic Ocean. *Illex coindetii*, *I. illecebrosus* and *I. argentinus* are the most important species in this complex genus, inhabiting the Eastern Atlantic and the Mediterranean and the Atlantic Northwest Southeast, respectively. Genetic differentiation through bookmarks that can quickly and accurately, the identification of specimens is a fundamental tool to prevent the replacement of high-value commercial species by others of less value.

The COI gene (cytochrome oxidase I) mt-DNA, has been touted as a good marker for differentiating between species, thus, were analyzed tissue samples from 11 species of cephalopods. Genetic distance was calculated according to the K2P method. The results showed a good ability of separation by species.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, houve um tremendo crescimento no consumo de pescado (cefalópodes incluídos) devido a mudanças nas atitudes do consumidor em relação à saúde e à nutrição. Este crescente aumento da procura, tem levado ao aumento das capturas com a consequente redução dos estoques disponíveis das principais espécies com valor comercial (Rasmussen e Morrissey, 2009; FAO, 2010).

As diferentes espécies de cefalópodes podem ser identificadas por pescadores experientes, comerciantes de retalho ou restauração e consumidores apenas quando os espécimes apresentam-se inteiros. No entanto, os pratos com cefalópodes, pré-cozidos ou preparados, tornam a diferenciação das espécies muito difícil ou até mesmo impossível. Desta forma, a substituição de espécies de alto valor por outros de menor valor comercial torna-se uma prática cada vez mais frequente (Mackie, 1996).

Assim, o uso de métodos genéticos que permitam uma identificação rápida e precisa das espécies utilizadas torna-se a melhor maneira de garantir ao consumidor a ausência de tal substituição.

Muitos estudos filogenéticos, especialmente em grupos de vertebrados, apontam como ideais genes ribossomais e os genes associados com os diferentes componentes do citocromo b (Cyt b) e citocromo oxidase (COI, COII). Os dois últimos são considerados relativamente conservados em vertebrados e invertebrados e o gene COI mt-DNA, tem sido apontado como um bom marcador de diferenciação entre espécies (Undheim *et al.*, 2010).

Assim, este estudo analisou amostras de 10 espécies de cefalópodes com o objetivo de testar a capacidade COI como marcador para sua diferenciação genética.

MATERIAL E MÉTODOS

O DNA total foi extraído a partir do tecido muscular do manto de amostras conservadas em etanol das dez espécies de cefalópodes (Tabela I) utilizando o método do fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) após digestão com proteinase K por aproximadamente 16 horas. O par de primers LCO1490 (5'-ggtaacaaatcataaagatattgg-3') e HCO2198 (5'-taaactcagggtgacaaaaaatca-3') foi utilizado para a amplificação do fragmento de 658

bp referente ao gene COI (Folmer *et al.*, 1994). Cada reação PCR foi realizada utilizando um mix formado por: 0,5 µL de cada primer (5 pmol/mL), 1 µL de MgCl₂ (50 mM), 4 µL da mistura de dNTP's (1,25 mM), 2,5 µL do tampão 10x (Invitrogen, Carlsbad-CA USA) (TrisHCl and KCl, pH 7.8), 0,2 µL de Taq polimerase (5 U/mL: Invitrogen), aproximadamente 100 ng de DNA total e água ultrapura para completar o volume de 50 µL. O protocolo de amplificação consistiu de uma desnaturação inicial por 60 s a 94°C; 5 ciclos de 60 s a 94°C, 90 s a 45°C e 90 s a 72°C; seguidos de 35 ciclos de 60 s a 94°C, 90 s a 50°C e 60 s a 72°C seguidos de uma extensão final de 5 min a 72°C.

Tabela I.- Famílias, espécies e número de amostras analisadas.

Família	Espécies	nr	Nome comum
Ommastrephidae	<i>Illex argentinus</i> Castellanos, 1960	16	Argentine shortfin squid
	<i>Illex coindetii</i> Verany, 1839	15	Broadtail shortfin squid
	<i>Illex illecebrosus</i> Le sueur, 1821	18	Northern shortfin squid
Loliginidae	<i>Loligo vulgaris</i> Lamarck, 1798	3	European squid
	<i>Loligo gahi</i> Orbigny, 1835	2	Patagonian squid
	<i>Alloteuthis subulata</i> Lamarck, 1798	5	European common squid
	<i>Uroteuthis edulis</i> Hoyle, 1885	2	Swordtip squid
	<i>Loligo blekeri</i>	-	Spear squid
	(sequence obtained by GenBank)		
Sepiidae	<i>Sepia elegans</i> Blainville, 1827	3	Elegant cuttlefish
	<i>Sepia officinalis</i> Linnaeus, 1758	5	Common cuttlefish
	<i>Sepia pharaonis</i> Ehrenberg, 1831	5	Pharaoh cuttlefish

O produto PCR foi carregado em gel de agarose a 2% em tampão TBE 1X e GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain (Biotium, Hayward CA, USA) na proporção 1:10000 de forma a verificar o resultado da amplificação. O tamanho dos fragmentos obtidos foi estimado com um marcador de 100–1500 bp. Os produtos PCR foram limpos antes da reação de sequenciamento utilizando o kit NucleoSpin Extract II (Macherey–Nagel, Inc., Bethlehem PA, USA) de acordo com o protocolo do fabricante.

As duas fitas de DNA amplificadas foram sequenciadas num sequenciador automático

CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Fullerton CA, USA), utilizando os primers descritos anteriormente (LCO1490 and HCO2198) e o kit CEQ Dye Terminator cycle sequencing Quick Start kit (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) de acordo com as recomendações do fabricante.

As seqüências de nucleótidos obtidas foram verificadas e corrigidas com o CEQ8000 Investigator software (Beckman Coulter, Fullerton, CA) sendo subsequentemente alinhada com o software Clustal W, as análises filogenéticas foram realizadas no programa MEGA versão 5 (Tamura *et al.*, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distância genética entre duas seqüências representa o nível de semelhança entre elas. Neste trabalho, foi utilizado o modelo Kimura-2-parâmetros para construção da matriz de distâncias genéticas apresentada na tabela II.

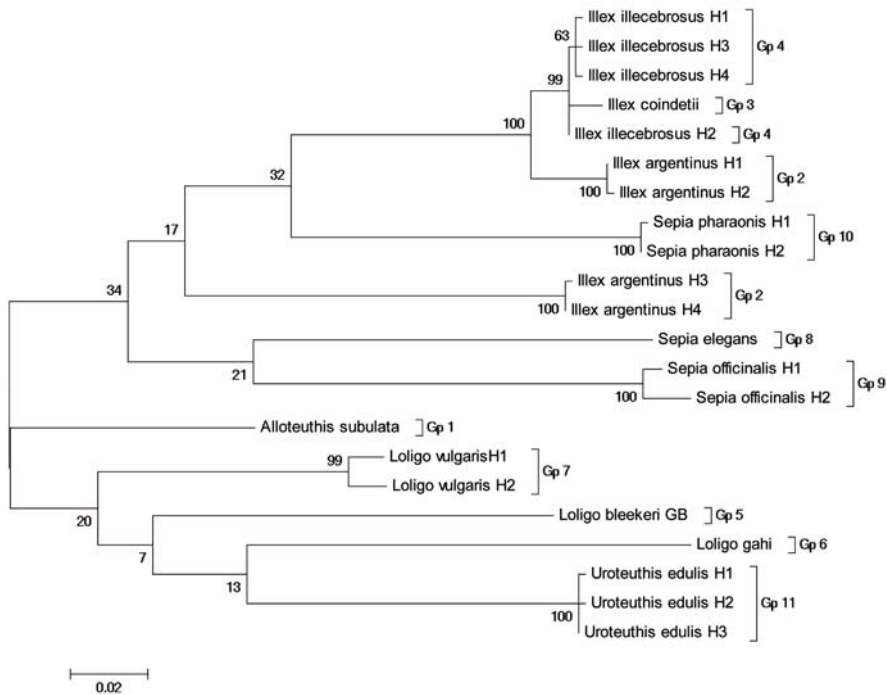
Tabela II.- Estimativas de divergência evolutiva sobre pares de seqüência entre grupos (distâncias e desvio padrão).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>Alloteuthis subulata</i>		0,017	0,018	0,018	0,020	0,021	0,017	0,020	0,021	0,019	0,019
2 <i>Illex argentinus</i>	0,166		0,011	0,011	0,019	0,021	0,018	0,019	0,020	0,018	0,020
3 <i>Illex coindetii</i>	0,153	0,105		0,004	0,022	0,023	0,020	0,020	0,021	0,018	0,022
4 <i>Illex illecebrosus</i>	0,152	0,101	0,011		0,021	0,022	0,020	0,021	0,021	0,018	0,022
5 <i>Loligo bleekeri</i> (GB)	0,176	0,200	0,213	0,207		0,023	0,019	0,023	0,023	0,021	0,021
6 <i>Loligo gahi</i>	0,192	0,220	0,226	0,219	0,205		0,020	0,022	0,022	0,022	0,023
7 <i>Loligo vulgaris</i>	0,145	0,192	0,189	0,187	0,166	0,189		0,020	0,022	0,020	0,017
8 <i>Sepia elegans</i>	0,193	0,204	0,201	0,200	0,220	0,208	0,189		0,022	0,021	0,019
9 <i>Sepia officinalis</i>	0,195	0,212	0,210	0,204	0,231	0,224	0,221	0,204		0,022	0,022
10 <i>Sepia pharaonis</i>	0,182	0,182	0,167	0,159	0,213	0,218	0,192	0,191	0,193		0,022
11 <i>Uroteuthis edulis</i>	0,157	0,208	0,204	0,201	0,193	0,203	0,159	0,185	0,221	0,208	

Um número variável de haplótipos/ecótipos foi identificado nos diferentes grupos (espécies). A história evolutiva foi inferida utilizando o método de máxima verossimilhança

baseado no modelo Kimura-2-parâmetros (Kimura, 1980). A árvore com maior valor de verosimilhança é mostrada na figura 1. A percentagem de árvores em que os táxones são agrupados é mostrada ao lado dos ramos. As árvores iniciais em cálculo heurístico foram obtidas automaticamente segundo as regras: quando o número de locais comuns foi <100 ou menos de um quarto do número total de locais, o método de máxima parcimônia foi utilizado; de outra forma foi utilizado o método BIONJ com uma matriz de distâncias MCL. A árvore filogenética foi desenhada em escala, sendo o comprimento dos braços medido em número de substituições por local. A análise envolveu 22 sequências de nucleótidos. Todas as posições que continham falhas ou missing data foram eliminadas. Desta forma foram analisadas 586 posições na base dados final.

Figura 1.- Análise filogenética molecular pelo método de máxima verosimilhança.



Foi observada alguma sobreposição entre grupos (*I. coindetii* vs *I. illecebrosus* e *I. argentinus* H3 e H4 vs *Sepiidae*), resultados semelhantes foram observados por Lopes *et al.* (2006), utilizando o gene *cyt-b* com o mesmo grupo de espécies.

O número de substituições de bases por local em media sobre todos os pares de sequências é mostrado. O desvio padrão estimado é mostrado acima da diagonal, sendo obtido por

um procedimento de bootstrap (2000 réplicas).

CONCLUSÕES

O uso do gene COI para diferenciação genética entre espécies de cefalópodes apresenta uma boa alternativa pois permite identificar, de uma forma rápida e precisa, as principais famílias com valor comercial.

REFERÊNCIAS

- FAO, 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. Rome, FAO. 192pp.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3: 294–299.
- Jereb P., Roper C.F.E. (eds), 2005. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 1. Chambered nautilus and sepioids (Nautilidae, Sepiidae, Sepiolidae, Sepiadariidae, Idiosepiidae and Spirulidae). *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*. No. 4, Vol. 1. Rome, FAO. 262pp.
- Jereb P., Roper C.F.E. (eds), 2010. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 2. Myopsid and Oegopsid Squids. *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*. No. 4, Vol. 2. Rome, FAO. 605pp.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Lopes J.C., Brito A.N., Comesaña A.S., Guerra A., Sanjuan A. 2006. Phylogeny of Cephalopods Using Mitochondrial DNA Sequences – Families Ommastrephidae and Loliginidae. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August, 13 to 18, Belo Horizonte, Brasil.
- Mackie I.M. 1996. Authenticity of fish. In: P.R. Ashurt M. J. Dennis (Eds.), *Food authentication*

- . London: Blackie Academic and Professional. Pp. 140-170.
- Rasmussen R.S., Morrissey M.T. 2009. Application of DNA-Based methods to identify fish and seafood on the commercial market. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8: 118-154.
- Rodhouse P.G.; Dawe E.G.; O'Dor R.K. (eds.), 1998. Squid recruitment dynamics. The genus *Illex* as a model. The commercial *Illex* species. Influences on variability. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 376. Rome, FAO. 273pp.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S.. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Undheim E.A.B, Norman J.A., Thoen H.H. 2010. Genetic identification of Southern Ocean octopod samples using mtCOI. *Comptes Rendus Biologies* 333: 395-404.

Utilização do gene 5S rDNA em diferenciação genética de cefalópodes

Lopes¹ J.C.O., Mendes¹ C., Silva¹ R., Sanjuan² A.

¹Instituto Politécnico de Viana do Castelo – ESA, Mosteiro de Refóios – 4990-706, Ponte de Lima, Portugal.

²Fac. de Ciencias-Biología, Univ. de Vigo, Vigo 36200, Spain

juliocesar@esa.ipv.pt

SUMMARY

The management of fisheries and fish stocks is now one of the biggest problems encountered in the sector. Knowing the genetic structure of different populations and their interrelationships with other species becomes increasingly necessary in order to allow for a proper use of resources and avoid the replacement of species of high commercial value with the lowest value. This study aims to demonstrate the possibility of using the 5S gene of the rDNA, as a way to distinguish species and/or families. For the study has been reviewed 5 species (*Urotheuthis edulis*, *Illex argentinus*, *Illex coindetii*, *Illex illecebrosus* and *Todarodes sagittatus*) from different capture zones. The fragments obtained show sizes from 198 to 543 bp. The results demonstrate the possibility of differentiating the families *Ommastrephidae* and *Loliginidae*, but find it difficult to separate species within the same genus. However, in the *Todarodes sagittatus* samples, we observe a different number of bands in Iceland samples (two bands) and Spanish samples (one band).

INTRODUÇÃO

Os cefalópodes representam um importante recurso pesqueiro sendo a captura de lulas responsável por cerca de 70% do total das capturas (FAO, 2010). Grande parte das capturas é vendida sob a forma processada, o que envolve a remoção de pele e intestinos, a separação da cabeça, braços, tentáculos e nadadeiras e, no caso das lulas, cortada em anéis. Este processamento dificulta ou até mesmo impede sua identificação quanto às espécies ou gêneros utilizadas (Chapela, *et al.*, 2003). Isto permite que espécies com alto valor comercial sejam substituídas por outras de menor valor (*Ommastrephidae* vs *Loliginidae*).

O gene do DNA ribossomal 5S tem sido apresentado como um marcador que permite a separação entre espécies por conter zonas muito conservadas permitindo o isolamento das NTS's pelas técnicas de PCR (Malik e Wasko, 2004).

Tognoli *et al.* (2011) demonstraram que o gene 5S apresenta uma boa capacidade de separação e identificação de espécies de peixes através de técnicas rápidas e simples. Da mesma forma, Sales *et al.* (2011) testaram a utilidade do marcador para separação espécies pertencentes a duas famílias de cefalópodes (*Loliginidae*, *Ommastrephidae*) concluindo não ser possível diferenciar espécies mas somente separar famílias.

No presente trabalho pretendeu-se testar o uso do gene 5S como marcador para diferenciar cinco espécies de cefalópodes capturados em diferentes regiões.

MATERIAL E MÉTODOS

O DNA total foi extraído a partir do tecido muscular do manto de amostras conservadas em etanol das cinco espécies de cefalópodes (Tabela I) utilizando o método do fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) após digestão com proteinase K por aproximadamente 16 horas. Para amplificação dos diferentes fragmentos do gene 5S rDNA foi utilizado o par de primers 5SA (5'-TACGCCCCGATCTCGTCCGATC-3') e 5SB (5'-CAGGCTGGTATGGCCGTAAGC-3') (Pendás *et al.*, 1994). Cada reação PCR foi realizada utilizando um mix formado por: 0,5 µL de cada primer (5 pmol/mL), 1 µL de MgCl₂ (50 mM), 4 µL da mistura de dNTP's (1,25 mM), 2,5 µL do tampão 10x (Invitrogen, Carlsbad-CA USA) (TrisHCl and KCl, pH 7.8), 0,2 µL de Taq polimerase (5 U/mL: Invitrogen), aproximadamente 100 ng de DNA total e água ultrapura para completar o volume de 25 µL. O

protocolo de amplificação foi de 4 min a 95°C para desnaturação inicial; 20 s. a 95°C para desnaturação, 1 min a 55°C para emparelhamento e 30 s. a 72°C para extensão, repetidos por 35 ciclos; um ciclo de extensão final a 72°C por 7 min.

Os produtos PCR obtidos foram separados em gel de agarose a 2% em tampão TBE 1X utilizando como corante o GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain (Biotium, Hayward CA, USA) na proporção de 1:10000. Os tamanhos dos fragmentos amplificados foram estimados utilizando um marcador de 100-1500 bp. O gel foi verificado e foto-documentado utilizando um transiluminador UV associado a uma câmara digital KODAK DC-120.

Tabela I.- Famílias e espécies utilizadas.

Família	Espécie	Origem	Número de amostras	Nome comum
Ommastrephidae	<i>Illex argentinus</i> Castellanos, 1960	Falklands	15	Argentine shortfin squid
	<i>Illex coindetii</i> Verany, 1839	Spain	15	Broadtail shortfin squid
	<i>Illex illecebrosus</i> Le sueur, 1821	Rhode Island	15	Northern shortfin squid
	<i>Todarodes sagittatus</i> Lamarck, 1798	Spain Iceland	8 10	European flying squid
Loliginidae	<i>Uroteuthis edulis</i> Hoyle, 1885	Portugal	6	Swordtip squid

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As diferentes reações PCR produziram fragmentos com tamanhos compreendidos entre os 198 e os 543 bp (Fig. 1) sendo possível com estes resultados diferenciar a espécie da família *Loliginidae* (*Uroteuthis edulis*) das restantes por produzirem apenas uma banda por indivíduo sendo as mesmas as bandas de menor (210-249bp). Por outro lado, as espécies do género *Illex*, produziram bandas com tamanhos sobrepostos (Tabela II).

Os resultados obtidos demonstraram ser possível utilizar o gene 5S rDNA como marcador genético para diferenciação entre famílias ou géneros de cefalópodes mas não para diferenciação entre espécies. Resultados semelhantes foram obtidos por Sales *et al.* (2011) ao comparar espécies de *Ommastrephidae* e *Loliginidae*, no entanto, a variação observada entre as amostras de *Todarodes sagittatus* capturadas na Islândia (Ts Reik e Ts Is) e as capturadas

na Espanha (Ts Val) demonstraram uma variação intraespecífica ainda não referenciada na bibliografia, e que foi evidenciada com o uso do marcador.

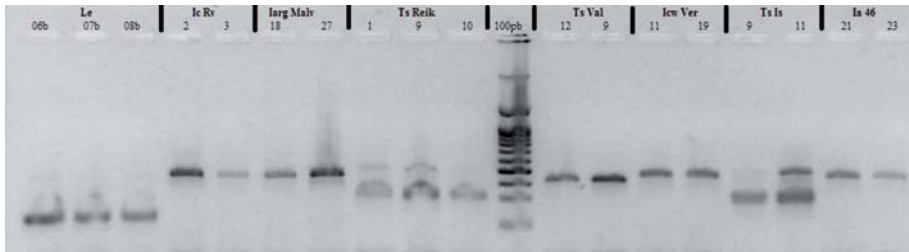


Figura 1.- Exemplo da análise dos fragmentos do gene 5S rDNA obtidos por PCR para as cinco espécies de cefalópodes em estudo.

Tabela II.- Padrão de bandas amplificadas para as cinco espécies analisadas.

Espécie	Origem	Número de bandas	Tamanho (bp)
<i>Illex argentinus</i>	Falklands	1	385 - 485
<i>Illex coindetii</i>	Spain	1	364 - 485
<i>Illex illecebrosus</i>	Rhode Island	1	378 - 485
<i>Urotheutis edulis</i>	Portugal	1	210 - 249
	Spain	1	292 - 446
<i>Todarodes sagittatus</i>	Iceland	2	385 - 543
			198 - 355

CONCLUSÕES

O uso do gene 5S rDNA como marcador genético oferece boas possibilidades para diferenciação entre famílias e géneros de cefalópodes sendo necessário aumentar o número de espécies estudadas. De referenciar que, no presente trabalho, foi feita a tentativa de amplificar fragmentos em espécies da família *Sepiidae* mas sem sucesso até ao presente momento.

REFERÊNCIAS

- Chapela M.J., Sotelo C.G., Pérez-Martin R.I. 2003. Molecular identification of Cephalopods species by FINS and PCR-RFLP of a cytochrome b gene fragment. *European Food Research and Technology* 217: 524-529.
- FAO, 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. Rome, FAO. 192pp.
- Martins C., Wasko A.P. 2004. Organization and evolution of 5S ribosomal DNA in the fish genome. In: C.R. Williams (Ed.), *Focus on genome research*. Nova Science Publishers, p. 335-363.
- Pendás A.M., Mórán P., Freije J.P., Garcia-Vazquez E. 1994. Chromosomal mapping and nucleotide sequence of two tandem repeats of Atlantic salmon 5S rDNA. *Animal Cytogenetics and Comparative Mapping* 67: 31-36.
- Sales J.B.L., Rodrigues-Filho L.F.S., Haimovici M. 2011. Molecular differentiation of the species of two squid families (Loliginidae and Ommastrephidae) based on PCR study of the 5S rDNA gene. *Food Control* 22: 96-98.
- Tognoli C., Saroglia M., Terova G., Gornati R., Bernardini G. 2011. Identification of fish species by 5S rRNA gene amplification. *Food Chemistry* 129: 1860-1864.

Utilización de microalgas en la alimentación de juveniles de lenguado senegalés: efecto sobre la actividad enzimática intestinal

López¹ G., Vizcaíno¹ A.J., Rodiles³ A., Barros¹ A., Hidalgo¹ L., Cerón² M.C., Macías-Sánchez² M.D., Martínez¹ T.F., Hachero⁴ I., Herrera⁴ M., Cordero⁴ M.L., Alarcón^{1*} F.J.

¹Dpto. Biología Aplicada, Universidad de Almería-CEIA₃, Almería, España.

²Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Almería-CEIA₃, Almería, España.

³ Faculty of Science and Technology, University of Plymouth. Plymouth, Gran Bretaña.

⁴IFAPA Centro Agua del Pino, Cartaya. Huelva.

falarcon@ual.es

RESUMEN

En el presente trabajo se evalúa que efecto produce la utilización de harina de microalgas sobre la actividad enzimática digestiva asociada al intestino en ejemplares juveniles de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). En el estudio se han evaluado cuatro dietas experimentales isolipídicas, isocalóricas e isoproteicas, tres de ellas con un 15% de biomasa liofilizada de las microalgas *Isochrysis galbana* (ISO), *Scenedesmus almeriensis* (SCE) y *Nannochloropsis gaditana* (NAN), y una cuarta como control experimental (CON) sin incorporación de microalgas. Adicionalmente, en el experimento se incluyó un pienso comercial utilizado para el preengorde esta especie (GEM). Los juveniles de lenguado senegalés fueron distribuidos al azar en grupos de 20 individuos en 15 tanques, siendo alimentados durante 75 días dos veces al día. Al final del ensayo los peces fueron sacrificados y sus intestinos procesados para obtener extractos enzimáticos en los que cuantificar las actividades proteasas alcalina, tripsina, quimotripsina, amilasa, fosfatasa alcalina y leucina aminopeptidasa. Los resultados indican que el uso de microalgas no alteró los niveles de actividad de las enzimas proteolíticas en el intestino, ni el patrón de proteasas en ninguno de los tratamientos

experimentales, aunque si se comprobó que los peces alimentados con el pienso comercial (GEM) presentaron un menor número de proteasas en su digestivo. Ni las harinas algales ni los piensos experimentales presentaron capacidad para inhibir a las proteasas digestivas de esta especie. En general, los niveles de actividad amilolítica fueron significativamente menores en los peces alimentados con el pienso comercial (GEM), especialmente en la fracción de actividad asociada a la luz del tubo digestivo. Por su parte, la inclusión de microalgas redujo los niveles de actividad aminopeptidasa y fosfatasa alcalina en la luz del tubo digestivo, a la par que produjo un incremento en el nivel de actividad de estas enzimas en la fracción asociada a la mucosa intestinal. Este cambio cuantitativo en la distribución espacial de las enzimas implicadas en los procesos absorción indica que la inclusión de estas microalgas mejora la funcionalidad de la mucosa intestinal en los ejemplares juveniles de *S. senegalensis*.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la elevada producción de la acuicultura en mar abierto de dorada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) y lubina (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) en el arco mediterráneo, unida a la escasez de oferta de otras especies, han provocado un declive en los precios de mercado (Morais *et al.*, 2004), llegando en algunos casos a amenazar la rentabilidad y continuidad del sector. El continuo incremento de la producción de peces marinos con tecnología ya desarrollada hace que sea necesario disponer en el mercado acuícola de nuevas especies con elevada demanda. El lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) se ajusta perfectamente a esta última característica, ya que tiene una elevada demanda y un precio alto en el mercado. En estudios previos se concluye que la cría de esta especie para la producción acuícola es viable (Dinis *et al.*, 1999; Moyano *et al.*, 1999; Morais *et al.*, 2004; Sáenz de Rodrigáñez *et al.*, 2005; Rodiles *et al.*, 2011). La fase reproductiva de esta especie ya está lo suficientemente estudiada y es un proceso viable económicamente, pero en la fase larvaria y juvenil aún es necesario disponer de mayor conocimiento acerca de sus necesidades nutricionales (Dinis *et al.*, 1999).

En base a lo anterior, es de gran interés formular alimentos que permitan un adecuado desarrollo de esta especie, evaluando su efecto sobre el crecimiento y la fisiología de los peces, y destacando especialmente los aspectos relacionados con la nutrición del animal, como los procesos implicados en la digestión y absorción del alimento. En estudios previos ya se ha estudiado para esta especie que efecto produce la sustitución de la harina de pescado por proteína de origen vegetal en el crecimiento y aprovechamiento del alimento (Silva *et al.*, 2010). De igual forma, Rodiles *et al.* (2011) comprobaron que la utilización de harina de

las microalgas *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis gaditana* y *Scenedesmus almeriensis* no afecta al rendimiento zootécnico de los juveniles de *S. senegalensis* cuando éstos son alimentados con piensos que incluyen estas microalgas. Como continuación al trabajo de Rodiles *et al.* (2011), en el presente estudio se evalúa que efecto ejerce la inclusión en el alimento de esas mismas microalgas (*I. galbana*, *S. almeriensis* y *N. gaditana*) sobre las actividades enzimáticas digestivas de juveniles de lenguado senegalés.

MATERIAL Y MÉTODOS

ANÁLISIS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron en el estudio un total de 300 juveniles de lenguado senegalés (*S. senegalensis*) que fueron alimentados con pienso comercial hasta alcanzar un peso corporal de 11,4g. Seguidamente, los peces se separaron al azar en 15 tanques de propileno, 20 individuos por tanque, y fueron alimentados con cinco piensos. Cada pienso se suministró por triplicado a razón de un 3% de la biomasa del tanque en dos tomas diarias (9:00 y 13:00). Las condiciones de salinidad se mantuvieron a 35‰, la temperatura entre 18,5-20°C, y la duración del ensayo fue de 75 días.

PIENSOS EXPERIMENTALES

Se elaboraron tres piensos isoproteicos (55%), isolipídicos (14,5%) e isocalóricos (16,4 MJ/kg) en los que se incluyó un 15% de biomasa *Isochrysis galbana* (ISO), *Scenedesmus almeriensis* (SCE) y *Nannochloropsis gaditana* (NAN). En todos los casos el preparado algal fue liofilizado antes de su utilización (Tabla I). Como controles se emplearon un pienso comercial (GEM) y un pienso control experimental sin microalgas (CON).

Tabla I.- Composición química (%) de la biomasa algal empleada en la elaboración de los piensos.

Microalgas	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	Cenizas	Carotenoides	Clorofila
ISO	35	21	31,9	12,2	0,3	0,8
SCE	44	9	36,9	10,1	1,5	1,4
NAN	43	27	22,7	7,4	0,5	0,6

OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE EXTRACTOS ENZIMÁTICOS

Los peces fueron sacrificados al final del experimento (día 75) mediante sobredosis de anestésico, 2-fenoxietanol (1mL/L), de acuerdo con la directiva comunitaria CEE/86/609, y conservados en frío hasta su disección. A cada pez se le extrajo el intestino diferenciando el contenido (CD) del continente (CT), y se prepararon extractos enzimáticos de cada fracción para la posterior determinación de actividades enzimáticas digestivas.

Se agruparon al azar el tejido o el continente intestinal de nueve ejemplares de cada tanque y se prepararon tres extractos enzimáticos de continente y contenido intestinal de cada uno de ellos, obteniéndose un total de dieciocho extractos enzimáticos por tratamiento. Las muestras se homogenizaron en agua destilada, y el homogenado se centrifugó (12.000 rpm, 12 min, 4°C). El sobrenadante se repartió en alícuotas para su conservación a -20°C hasta su uso posterior. A cada uno de estos extractos se le determinó la concentración de proteína soluble mediante el método Bradford (Bradford, 1976).

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DIGESTIVAS

La actividad proteasa alcalina se determinó empleando una modificación del método de Kunitz (1947), modificado por Walter (1984) usando como sustrato azocaseína. El resto de actividades se cuantificó mediante cinética midiéndose el incremento de absorbancia en un lector de microplacas a una longitud de onda de 405nm utilizando sustratos específicos para cada una de ellas; N-benzoil-DL-arginina-P-nitroanilida para la actividad tripsina, succinil-(Ala)²-Pro-Phe-P-nitroanilida para la actividad quimotripsina, 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido para la actividad amilasa, L-leucina p-nitroanilida para la actividades leucina aminopeptidasa, y p-nitrofenil-fosfato para la actividad fosfatasa alcalina. Finalmente, todos los valores de actividad obtenidos se expresaron en U/g de tejido. Las proteasas alcalinas se visualizaron en geles de poliacrilamida según se describe en Alarcón *et al.* (1998).

ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE INHIBIDORES DE PROTEASA EN LAS HARINAS DE MICROALGAS

Se realizaron extractos acuosos de las harinas algales y los piensos (100 mg/mL) para analizar la existencia de inhibidores de proteasa. A continuación, 10 μ L de un extracto enzimático de referencia se preincubaron durante una hora a temperatura ambiente con 10 μ L del extracto con potencial efecto inhibidor en 500 μ L de tampón Tris-HCl 100mM a pH 9 (se incluyó un control enzimático). La actividad proteasa residual se evaluó con azocaseína al 1% mediante un ensayo de actividad proteasa alcalina estándar. Los resultados se expresaron

en porcentaje de reducción en la actividad proteasa en cada uno de los tratamientos ensayados respecto a un ensayo control realizado con agua destilada en lugar de con el extracto acuoso de alga o pienso.

La presencia de inhibidores de proteasa en las harinas algales y los piensos también se analizó cualitativamente mediante electroforesis. Para ello, 10 μ L del extracto enzimático se mezclaron con 10 μ L del extracto algal o de pienso a testar. La solución resultante se incubó durante 60 minutos a temperatura ambiente, y se aplicó a un gel de electroforesis para revelar si existía inhibición en alguna de las bandas con actividad proteolítica utilizando un control como referencia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentan como la media \pm ds. Todos los ensayos enzimáticos se realizaron por triplicado. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Plus 4,0. Los datos en porcentaje fueron transformados a $\arcsen x^{1/2}$ para su posterior tratamiento. Los datos que presentaron distribución paramétrica fueron analizados mediante un ANOVA de una vía y sometidos a un test de Tuckey HSD para determinar las diferencias significativas existentes entre los distintos tratamientos ($P < 0,05$), mientras que los datos con distribución no paramétrica se analizaron mediante un test Kruskal-Wallis, y la presencia de diferencias significativas entre medianas se determinó mediante gráficas de cajas y bigotes (Box and Whisker Plots). A su vez, se realizó un análisis ANOVA de dos vías para determinar las diferencias entre las distintas fracciones (CD y CT) obtenidas para un mismo tratamiento experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ESTUDIO DE LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

En general, la inclusión de microalgas no afectó negativamente a ninguna de las actividades enzimáticas estudiadas (Tabla II). Los niveles de actividad proteasa alcalina, tripsina y quimotripsina no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ensayados siendo mayor su actividad en el contenido (CD) que en el continente (CT) intestinal. Este hecho es lógico debido a que tales enzimas son sintetizadas en el páncreas y secretadas a la luz del tubo digestivo, lugar este último en donde ejercen el grueso de su contribución en la hidrólisis de proteínas. Un resultado similar se observó para la actividad amilasa, mostrando

valores de actividad más altos en la fracción enzimática asociada al contenido intestinal (CD) que al continente (CT), con la excepción del grupo GEM que presentó una tendencia opuesta con niveles más altos en la fracción enzimática asociada al tejido intestinal. En cualquier caso, los peces alimentados con GEM presentaron valores significativamente más bajos de actividad amilolítica en sus intestinos que en los peces del resto de tratamientos. Este resultado parece estar más bien influenciado por el tipo de carbohidrato utilizado en los piensos experimentales que por la inclusión o no de microalgas. Se sabe que la principal fuente de carbohidratos en los piensos comerciales suele ser la harina de trigo que contiene fundamentalmente almidón, mientras que en los piensos experimentales, incluido el control experimental (CON), se utilizó maltodextrina que es un producto derivado de la hidrólisis del almidón. De este modo, parece que la propia naturaleza química del glúcido podría estimular de distinta forma la secreción de amilasa intestinal en los peces, tal y como evidencian los resultados obtenidos en el presente estudio. Así, una mayor secreción de estas enzimas podría incrementar el aprovechamiento digestivo de la fracción glucídica del alimento, lo que podría explicar el mejor rendimiento zootécnico obtenido por Rodiles *et al.* (2011) cuando los peces fueron alimentados con estos piensos experimentales, y se compararon los resultados con los peces que ingirieron el pienso comercial utilizado como referencia (GEM).

Los peces alimentados con ISO, SCE y NAN mostraron mayor nivel de actividad leucina aminopeptidasa en el continente (CT) que en el contenido (CD), en comparación con los animales de los tratamientos control, tanto CON como GEM. Resulta evidente que la inclusión de microalgas reduce el nivel de esta enzima en la luz del tubo digestivo al mismo tiempo que produce un incremento en el nivel de la actividad que está asociada a la mucosa intestinal. La actividad fosfatasa alcalina también se redujo en la fracción asociada a la luz del intestino en los peces alimentados con microalgas, fenómeno que parece reflejar un buen estado de la mucosa intestinal en comparación con los peces alimentados sin microalgas. Este cambio cuantitativo en la distribución espacial de las enzimas implicadas en los procesos de absorción indica que la inclusión de estas microalgas mejora la funcionalidad de la mucosa intestinal en los ejemplares juveniles de *S. senegalensis*.

Tabla II.- Actividades enzimáticas digestivas (U/g tejido) en los extractos intestinales de los juveniles de *S. senegalensis* (media \pm DS).

Actividad enzimática	GEM	CON	ISO	SCE	NAN
Contenido (CD)					
Proteasa alcalina	649,21 \pm 150,86 ^B	680,11 \pm 286,75 ^B	657,27 \pm 254,92 ^B	812 \pm 437,51 ^B	771,06 \pm 361,13 ^B
Tripsina	0,20 \pm 0,07 ^B	0,11 \pm 0,05 ^B	0,12 \pm 0,04 ^B	0,15 \pm 0,09 ^B	0,15 \pm 0,08 ^B
Quimotripsina	4,05 \pm 0,98 ^B	4,07 \pm 2,25 ^B	4,43 \pm 1,50 ^B	3,39 \pm 1,02 ^B	5,59 \pm 1,66 ^B
Amilasa	0,13 \pm 0,07 ^{a,A}	0,76 \pm 0,51 ^b	0,88 \pm 0,51 ^b	0,73 \pm 0,37 ^b	1,00 \pm 0,42 ^b
Leucina aminopeptidasa	0,22 \pm 0,04 ^B	0,18 \pm 0,09	0,12 \pm 0,11	0,14 \pm 0,08 ^A	0,12 \pm 0,08
Fosfatasa alcalina	7,17 \pm 2,29 ^B	11,84 \pm 9,99 ^B	1,71 \pm 1,69	4,66 \pm 2,80	3,97 \pm 2,51
Continente (CT)					
Proteasa alcalina	248,17 \pm 228,21 ^A	192,87 \pm 167,32 ^A	208,83 \pm 171,38 ^A	148,01 \pm 106,38 ^A	152,50 \pm 114,09 ^A
Tripsina	0,03 \pm 0,01 ^A	0,04 \pm 0,01 ^A	0,04 \pm 0,01 ^A	0,04 \pm 0,01 ^A	0,03 \pm 0,01 ^A
Quimotripsina	0,04 \pm 0,01 ^A	0,04 \pm 0,02 ^A	0,06 \pm 0,04 ^A	0,03 \pm 0,008 ^A	0,03 \pm 0,01 ^A
Amilasa	0,33 \pm 0,27 ^B	0,61 \pm 0,38	0,52 \pm 0,16	0,34 \pm 0,18	0,53 \pm 0,27
Leucina aminopeptidasa	0,15 \pm 0,10 ^{a,A}	0,28 \pm 0,09 ^b	0,35 \pm 0,18 ^b	0,52 \pm 0,31 ^{b,B}	0,26 \pm 0,14 ^b
Fosfatasa alcalina	1,55 \pm 0,66 ^A	3,20 \pm 1,58 ^A	3,29 \pm 2,08	3,30 \pm 2,15	2,34 \pm 1,28

(a): diferencias significativas entre tratamientos; (A): diferencias significativas entre fracciones de un mismo tratamiento.

La figura 1 ilustra el patrón de proteasas intestinales de los peces alimentados con los distintos piensos. En este zimograma se pueden visualizar las distintas fracciones con actividad proteolítica y apreciar si la utilización de microalgas modifica el patrón de proteasas alcalinas de los lenguados. Los resultados obtenidos mostraron que la inclusión de microalgas no afectó a las proteasas ya que en todos los peces aparece un patrón de proteasas intestinales similar que está caracterizado por la presencia de siete bandas con actividad proteolítica (Sáenz de Rodríguez *et al.*, 2005). No obstante, la única excepción fue para los peces alimentados con el pienso GEM en los que se observó un patrón totalmente distinto con un número menor de fracciones activas. Este fenómeno podría estar relacionado con la presencia de factores antinutritivos en el pienso comercial y/o ser consecuencia de las diferencias de composición entre los piensos experimentales y el pienso GEM.

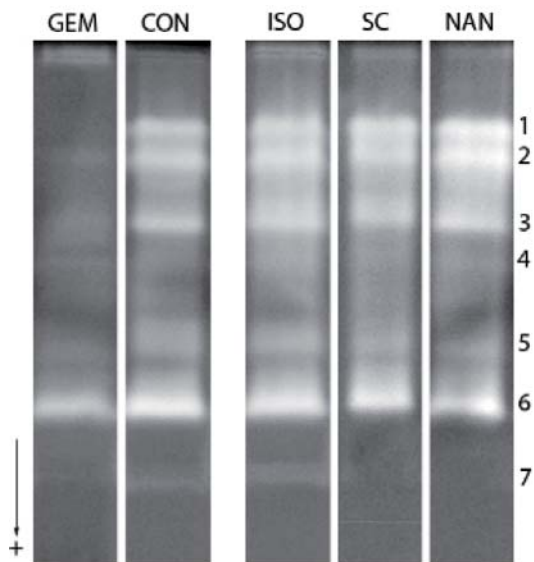


Figura 1.- Substrato-SDS-PAGE de los extractos intestinales de los juveniles de lenguado senegalés alimentados con los diferentes piensos experimentales. En cada carril se incluyeron 3,5 unidades de actividad proteasa alcalina de un extracto enzimático de cada tratamiento.

ESTUDIO DE PRESENCIA DE INHIBIDORES EN LOS PIENSOS EXPERIMENTALES

Al utilizar un ingrediente proteico alternativo a la harina de pescado para la elaboración de los piensos resulta de interés comprobar si tanto las materias primas como los piensos elaborados con éstas contienen algún factor antinutritivo que perjudique a los procesos digestivos del pez (Alarcón *et al.*, 1999). Además, el hecho de que los peces alimentados con GEM presentasen un patrón de bandas activas muy distinto al de los peces del resto de tratamientos hace necesario comprobar si este pienso contiene o no sustancias que puedan afectar a las proteasas digestivas de esta especie. Los resultados obtenidos en el ensayo de inhibición mostraron que tanto las microalgas como los piensos no contienen sustancias que tengan la capacidad de inhibir a las proteasas digestivas de los juveniles de lenguado senegalés (Fig. 2). Aunque en la gráfica se puede apreciar cierta inhibición residual de la actividad proteolítica producida por los piensos suplementados con microalga (que no es mayor del 20%), ésta sería causada por un factor distinto a la presencia de inhibidores, tal y como se corrobora con los resultados obtenidos en el zimograma en el que se evidencia que ni las algas ni ningún pienso alteran el patrón de proteasas intestinales de los peces (Fig. 3). Estos resultados concuerdan

con los descritos por Moyano *et al.* (1999), quienes indican que el lenguado senegalés posee una elevada resistencia frente a diversos inhibidores de proteasa presentes en las materias primas de origen vegetal.

A modo de conclusión, en el presente estudio se demuestra que ningún pienso experimental elaborado con harina microalgal produce efectos negativos sobre las actividades enzimáticas intestinales en los juveniles de *Solea senegalensis*. Para algunas de ellas los niveles de actividad se incrementan respecto a los tratamientos control. Las actividades leucina aminopeptidasa y fosfatasa alcalina muestran variaciones cuantitativas y de distribución espacial con el uso de las microalgas que parecen estar relacionadas con una mejora de la funcionalidad de la mucosa intestinal.

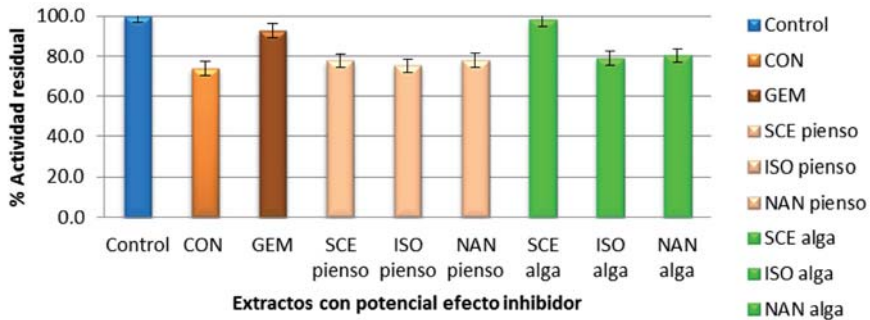


Figura 2.- Actividad residual de un extracto enzimático de referencia tras su incubación con extractos acuosos procedentes de las harinas algales y de los piensos.

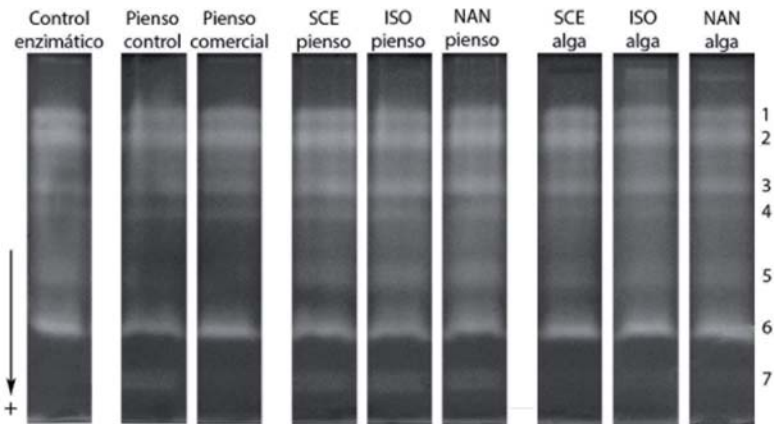


Figura 3.- Substrato-SDS-PAGE tras incubación de un extracto enzimático de referencia

con los extractos acuosos de harinas algales y los piensos. En cada carril se incluyeron 3,5 unidades de actividad proteasa alcalina de cada uno de los extractos acuosos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por el Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía AGR5334, el proyecto ECOAQUA y los fondos FEDER. Parte del desarrollo experimental se ha realizado en las instalaciones del Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA₃) de la Universidad de Almería.

BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón F.J., Díaz M., Moyano F.J., Abellán E. 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead seabream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemistry* 19:257–267.
- Alarcón F.J., Moyano F.J., Diaz M. 1999. Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparus aurata*). *Aquatic Living Resources* 12:233–238.
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72:248–254
- Dinis M.T., Ribeiro L., Soares F., Sarasquete C. 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and in Portugal. *Aquaculture* 176: 27–38.
- Kunitz M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *Journal of General Physiology* 30: 291–310.
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature* 227:680–685.
- Morais S., Narciso L., Dores E., Pousa P. 2004. Lipid enrichment for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile. *Aquaculture International* 12: 281–298.
- Moyano, F.J., Martínez, I., Díaz, M., Alarcón, F.J. 1999. Inhibition of digestive proteases by

vegetable meals in three fish species; seabream (*Sparus aurata*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sole (*Solea senegalensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 122: 327–332.

- Rodiles A., Gallego J.R., Hidalgo L., Camacho J., Cerón M.C., Ación F.G., Hachero I., Herrera M., Cordero M.L., Alarcón F.J. 2011. Sustitución parcial de la harina de pescado por harinas de microalgas en juveniles de lenguado senegalés: efecto sobre el crecimiento. *XIII Congreso Nacional de Acuicultura*. 21 al 24 de noviembre de 2011, Barcelona, España.
- Sáenz de Rodrigáñez M., Alarcón F.J., Martínez M.I., Ruiz F., Díaz M., Moyano F.J. 2005. Caracterización de las proteasas digestivas del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 21: 95-104.
- Walter H.E. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. En: *Methods of Enzymatic Analysis*. H.J. Bergmeyer (ed), 5: 270–277. VerlagChemie, Weinham.

Utilización de microalgas en la alimentación de juveniles de lenguado senegalés: efecto sobre la actividad enzimática intestinal.



López G.¹, Vizcaino A.J.¹, Rodiles, A.³, Barros A.¹, Hidalgo L.¹, Cerón M.C.², Macías-Sánchez M.D.², Martínez T.F.¹, Hachero, I.⁴, Herrera, M.⁴, Cordero, M.L.⁴ y Alarcón F.J.³

¹Dpto. Biología Aplicada y ²Dpto. Ingeniería Química, Universidad de Almería-CEIA, España. ³ Faculty of Science and Technology, University of Plymouth, UK ⁴ IFAPA Centro Agua del Pino, Cartaya, Huelva. e-mail: lgarcen@ual.es

El presente estudio evaluó el efecto que ejerce la utilización de diferentes microalgas: *Isochrysis galbana* (ISO), *Nannochloropsis gaditana* (NAN) y *Scenedesmus almeriensis* (SCE) en la actividad digestiva de los juveniles de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) y los posibles efectos antinutritivos sobre estos.

INTERÉS DEL USO DE *Solea senegalensis* EN ACUICULTURA

Posee una elevada demanda y un alto precio.

Elevada resistencia frente a factores antinutritivos presentes en materias primas de origen vegetal.

¿COMO AFECTA LA INCLUSIÓN DE MICROALGA EN EL ALIMENTO A LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DIGESTIVAS DE *S.SENEGALENSIS*?

METODOLOGÍA

Se emplearon 5 grupos de 60 peces alimentados con diferentes pienso cada uno (control comercial-GEM, control experimental-CON, pienso-ISO, pienso-SCE y pienso-NAN, estos tres últimos con una inclusión del 15% de biomasa microalga).

Los peces fueron sacrificados a los 75 días y se procesaron los órganos para su análisis.

OBTENCIÓN DE EXTRACTOS ENZIMÁTICOS

Extractos de contenido intestinal
Extractos de contenido intestinal

- Análisis de actividades enzimáticas digestivas.
- Estudio de las proteínas intestinales mediante electroforesis.
- Estudio de presencia de inhibidores de proteasas en los pienso experimentales.

ESTUDIO DE LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

Tabla 1. Actividades enzimáticas digestivas (U/g tejido) en juveniles de lenguado senegalés (media \pm DS).

Actividad enzimática	GEM	CON	ISO	SCE	NAN
Contenido					
Proteasa alcalina	649,21 \pm 150,80 ^a	680,11 \pm 286,75 ^a	657,27 \pm 254,92 ^a	812 \pm 437,51 ^b	771,06 \pm 361,13 ^b
Tripsina	0,20 \pm 0,07 ^a	0,11 \pm 0,05 ^a	0,12 \pm 0,04 ^a	0,15 \pm 0,09 ^a	0,15 \pm 0,08 ^a
Quimotripsina	4,05 \pm 0,98 ^a	4,07 \pm 2,25 ^a	4,43 \pm 1,50 ^a	3,39 \pm 1,02 ^a	5,59 \pm 1,66 ^a
Amilasa	0,13 \pm 0,07 ^a	0,76 \pm 0,51 ^b	0,88 \pm 0,51 ^b	0,73 \pm 0,37 ^a	1,00 \pm 0,42 ^a
Leucina aminopeptidasa	0,22 \pm 0,04 ^a	0,18 \pm 0,09	0,12 \pm 0,11	0,14 \pm 0,08 ^a	0,12 \pm 0,08
Fosfatasa alcalina	7,17 \pm 2,29 ^a	11,84 \pm 9,99 ^b	1,71 \pm 1,69	4,66 \pm 2,80	3,97 \pm 2,51
Contiente					
Proteasa alcalina	248,17 \pm 228,21 ^a	192,87 \pm 167,32 ^a	209,83 \pm 171,38 ^a	148,01 \pm 106,38 ^a	152,50 \pm 114,09 ^a
Tripsina	0,03 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a
Quimotripsina	0,04 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,02 ^a	0,06 \pm 0,04 ^a	0,03 \pm 0,008 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a
Amilasa	0,33 \pm 0,27 ^a	0,61 \pm 0,38	0,52 \pm 0,16	0,34 \pm 0,18	0,53 \pm 0,27
Leucina aminopeptidasa	0,15 \pm 0,10 ^a	0,28 \pm 0,09 ^a	0,35 \pm 0,18 ^a	0,52 \pm 0,31 ^b	0,26 \pm 0,14 ^a
Fosfatasa alcalina	1,55 \pm 0,66 ^a	3,20 \pm 1,58 ^a	3,29 \pm 2,08	3,30 \pm 2,15	2,34 \pm 1,28

(a) Diferencias significativas entre tratamientos. (A) diferencias significativas entre fracciones de un mismo tratamiento.

Los altos niveles de amilasa con respecto a GEM en ambas fracciones se puede relacionar con el nivel de hidratos de carbono presentes en la dieta.
Los niveles de leucina aminopeptidasa y fosfatasa alcalina pueden reflejar una mejora en la funcionalidad de la mucosa intestinal.

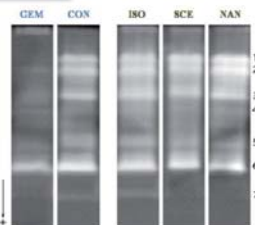


Figura 1. Zimograma de la actividad proteolítica.

Todos los grupos experimentales presentaron patrones similares de proteasas intestinales caracterizado por siete bandas activas.
Patrón totalmente distinto en el pienso comercial, probablemente debido a la composición de este.

PRESENCIA DE INHIBIDORES EN LOS PIENSOS EXPERIMENTALES

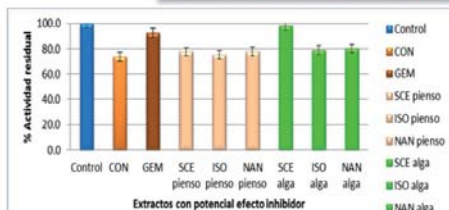


Figura 2. Actividad residual de los extractos enzimáticos de lenguado tras la incubación con extractos acuosos de la harina algal y de los pienso experimentales.

Ningún pienso contiene sustancias inhibidoras para las proteasas digestivas de *S.senegalensis*.
Las pérdidas de actividad en los pienso experimentales parecen no ser causadas por inhibidores sino por su composición.

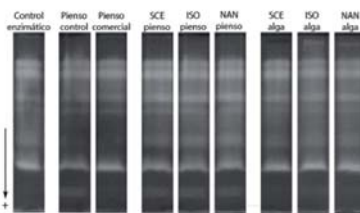


Figura 3. Zimograma tras ensayo de inhibición con extractos acuosos de harina algal y pienso experimentales.

Todos los grupos presentaron los mismos patrones caracterizado por siete bandas activas.
Corrobora la ausencia de sustancias inhibidoras de proteasas.

El uso de las microalgas *I.galbana*, *N.gaditana* y *S.almeriensis* no presentan efectos negativos sobre la calidad y digestibilidad de los individuos, produciendo una mayor eficiencia en la asimilación del alimento.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido subvencionado por el proyecto de excelencia AGR5334 de la Junta de Andalucía, el proyecto ECOAQUA y los fondos FEDER.

Vacunación de *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) frente a *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* con y sin adyuvante de Freund: efectos a nivel de respuesta inmune y de crecimiento

Lobo¹ C., Núñez-Díaz² J.A., Arijo² S., García de la Banda¹ I., Gutiérrez¹ J.R., Moreno-Ventas³ X., Balebona² M.C.

¹Instituto Español de Oceanografía C.O. Santander. Promontorio San Martín s/n CP 39080 Santander, España

²Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Campus Teatinos 29071 Málaga, España

³Área de Ecología de Ciencias y Técnicas del Agua y del Medio Ambiente. Universidad de Cantabria Avda. de los Castros s/n CP 39005 Santander, España

RESUMEN

En estos momentos no es posible afirmar que el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) sea una especie consolidada a nivel de producción industrial, ya que existe un claro factor limitante, como es la incidencia de patologías. Se ha ensayado para uso comercial una vacuna divalente frente a *Vibrio harveyi* y *P. damsela* subsp. *piscicida*, formada por bacterinas y ECPs de ambas especies inactivadas con formol (Arijo *et al.*, 2005). Sin embargo, aún es necesario optimizar el tiempo de actuación de esta vacuna.

El objetivo del presente trabajo fue la evaluación del efecto de la vacunación (con y sin adyuvante incompleto de Freund) frente a *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* sobre la respuesta inmune y el crecimiento en juveniles de lenguado senegalés. Si bien existen estudios que describen los efectos perjudiciales del empleo de este adyuvante en vacunas para bacalao (*Gadus morhua*, L.) y salmón atlántico (*Salmo salar*, L.) no existen hasta el

momento datos referentes a lenguado senegalés.

Los ejemplares de *Solea senegalensis*, de $324,3 \pm 60,8$ g de peso medio inicial, fueron distribuidos en 3 grupos: 1. Control (inoculados con 0,1µl de PBS), 2. Sin adyuvante (inoculados con 0,2µl de la vacuna de la UMA sin adyuvante) y 3. Con adyuvante (inoculados con 0,1µl de la vacuna de la UMA y con 0,1µl de adyuvante incompleto de Freund). Se llevaron a cabo muestreos biométricos y de evaluación de la respuesta inmune (ELISA) a tiempos 0, 12, 28, 40, 54 y 68 días del inicio del experimento. Asimismo se examinaron los ejemplares para detectar la posible presencia de alteraciones macroscópicas en vísceras y peritoneo. Los resultados fueron comparados estadísticamente mediante un test ANOVA de una vía y test post hoc.

La vacuna diseñada por la UMA aumentó significativamente el nivel de anticuerpos frente a *P. damsela* subsp. *piscicida* en los dos grupos de vacunación ensayados, si bien disminuyó el crecimiento de los ejemplares. Este último efecto fue más acusado en el grupo vacunado con el adyuvante incompleto de Freund. Además, la utilización de este agente produjo daños macroscópicos en la cavidad intraperitoneal y vísceras (intestino e hígado) de todos los ejemplares. Dados los efectos negativos derivados de la inoculación del adyuvante incompleto de Freund, se hace necesaria la valoración de la necesidad de su empleo en función de los niveles de protección conferidos por la vacuna empleada.

PALABRAS CLAVE

Solea senegalensis, vacuna, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, adyuvante incompleto de Freund

INTRODUCCIÓN

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) posee un elevado potencial para la diversificación de las especies dedicadas a la acuicultura debido a su alto precio, a su reproducción en cautividad y a los razonables resultados obtenidos durante el cultivo de larvas y juveniles (Imsland *et al.*, 2003; Conceição *et al.*, 2007). En estos momentos no es posible afirmar que el lenguado senegalés sea una especie consolidada a nivel de producción industrial, ya que existe un claro factor limitante, como es la incidencia de patologías (Cañavate *et al.*, 2005; Howell *et al.*, 2008). La práctica totalidad de las enfermedades son oportunistas y

ya conocidas por afectar a otras especies cultivadas, siendo *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, el patógeno que ha provocado las mortalidades más importantes (Zorrilla *et al.*, 1999; Zarza *et al.*, 2008).

Uno de los métodos profilácticos que se están utilizando frente a la pasteurelisis en dorada (*Sparus aurata*, L.) y en lubina (*Dicentrarchus labrax*, L.) es la vacunación (Magariños *et al.*, 1997; Dos Santos *et al.*, 2001). Asimismo se ha ensayado en lenguado senegalés para su uso comercial, con prometedores resultados, una vacuna divalente frente a *Vibrio harveyi* y *P. damsela* subsp. *piscicida* creada en la Universidad de Málaga UMA. Dicha vacuna está formada por bacterinas y ECPs (proteínas extracelulares) de ambas especies inactivadas con formol (Arijo *et al.*, 2005). Sin embargo, aún es necesario optimizar el tiempo de actuación de esta vacuna.

Para la optimización del tiempo de actuación de una determinada vacuna, es habitual el empleo de adyuvantes. Dichos compuestos tienen como función la inmovilización de los inmunógenos prolongando el tiempo de contacto de los mismos con los macrófagos. Un adyuvante bien conocido es el adyuvante incompleto de Freund, que consiste en un aceite mineral acompañado de emulsionante, Arlacel o monoleato de di-anhidromanitol. Sin embargo la aplicación de este tipo de compuesto en vacunas para mamíferos y peces puede producir efectos secundarios como son la inflamación de órganos internos y la aparición de granulomas (Cooper *et al.*, 1993), llegando incluso a provocar peritonitis adhesivas crónicas (Mutoloki *et al.*, 2004; Gjessing *et al.*, 2012).

Si bien existen estudios que describen los efectos perjudiciales del empleo de este adyuvante en vacunas para bacalao (*Gadus morhua*, L.) y salmón atlántico (*Salmo salar*, L.) (Mutoloki *et al.*, 2004; Gjessing *et al.*, 2012), se presenta aquí el primer estudio que aplica este adyuvante en la vacunación de juveniles de lenguado senegalés.

El objetivo del presente trabajo fue la evaluación del efecto de la vacunación (con y sin adyuvante incompleto de Freund) frente a *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida*, sobre la respuesta inmune y el crecimiento en juveniles de lenguado senegalés.

MATERIALES Y MÉTODOS

La vacuna fue preparada según protocolo de la Universidad de Málaga (UMA) con bacterinas de *P.damseale* subsp. *piscicida* suspendidas en una solución de PBS estéril (10^9 cél mL⁻¹) suplementadas al 1/10 con ECPs inactivos procedentes de la misma cepa seleccionada (Arijo *et al.*, 2005). Antes de su empleo se comprobó la esterilidad de la vacuna inoculando la misma en TSAs y detectándose ausencia de crecimiento bacteriano a las 48 horas de

incubación a 22°C.

Los ejemplares de *Solea senegalensis*, de $324,3 \pm 60,8$ g de peso medio inicial, fueron distribuidos en tanques circulares de 500 L ($13,4 \text{ kg m}^{-2}$) en el C.O. de Santander. Los peces fueron alimentados con pienso comercial (57% proteínas, 18% lípidos, Skretting) al 1% mediante comederos automáticos. La temperatura del agua fue de $17,2 \pm 1,2^\circ\text{C}$ y la salinidad de $35,4 \text{ gL}^{-1}$.

Tras un periodo de aclimatación de 15 días se procedió a la vacunación de los ejemplares, previa anestesia de los mismos con aceite de clavo (80 ppm). Se establecieron 3 grupos: 1. Control (inoculados con $0,1 \mu\text{l}$ de PBS); 2. Sin adyuvante (inoculados con $0,2 \mu\text{l}$ de la vacuna de la UMA sin adyuvante) y 3. Con adyuvante (inoculados con $0,1 \mu\text{l}$ de la vacuna de la UMA y con $0,1 \mu\text{l}$ de adyuvante incompleto de Freund). Las inyecciones intraperitoneales se realizaron a tiempo 0 y a los 28 días del inicio del experimento.

Se llevaron a cabo muestreos biométricos y de evaluación de la respuesta inmune a tiempos 0, 12, 28, 40, 54 y 68 días del inicio del experimento. Asimismo se controló la supervivencia diariamente. Los datos de crecimiento permitieron el cálculo de la tasa específica de crecimiento (% SGR) de los tres lotes de ejemplares. Para el estudio del nivel de anticuerpos en suero frente a *P. damsela* subsp. *piscicida* se tomaron muestras de sangre de 5 individuos por tratamiento. El suero extraído fue conservado a -80°C hasta su posterior análisis en la UMA. Los anticuerpos específicos presentes en las muestras de suero se cuantificaron mediante la técnica ELISA (Robertson *et al.*, 1998) midiendo la absorbancia del producto obtenido a 492 nm inmovilizado en los pocillos de las placas de ELISA. Como primer anticuerpo se empleó suero de conejo inmunizado frente a anticuerpos de lenguado, mientras que la reacción colorimétrica se desarrolló tras la incubación con anticuerpos de cabra conjugados con peroxidasa, frente a anticuerpos de conejo (Sigma). Asimismo se examinaron los ejemplares para detectar la posible presencia de alteraciones macroscópicas relacionadas con el adyuvante empleado y se tomaron fotografías de las mismas. Los resultados fueron comparados estadísticamente mediante un test ANOVA de una vía y test post hoc.

RESULTADOS

La producción de anticuerpos específicos frente a *P. damsela* subsp. *piscicida* fue diferente para cada uno de los grupos de tratamiento. Los valores de absorbancia a 492nm obtenidos con la técnica ELISA para las diluciones 1:250 de las muestras de suero se muestran en la figura 1.

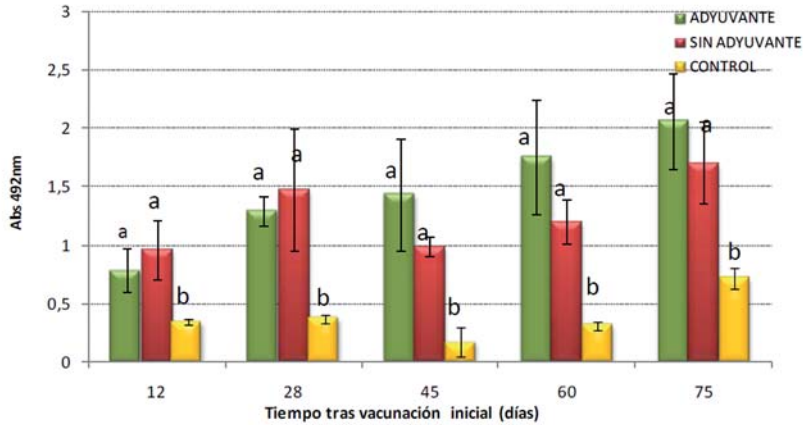


Figura 1.- Cuantificación (Abs492nm) de anticuerpos frente a *P. damselae* subsp. piscicida en suero (dilución 1:250) de juveniles de lenguado senegalés vacunados con y sin adyuvante incompleto de Freund y grupo control. Se realizaron vacunaciones en los días 0 y 28. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas.

Los valores obtenidos a tiempo 0 fueron estadísticamente iguales para todos los tratamientos ($p < 0,05$). La vacuna diseñada por la UMA aumentó significativamente ($p < 0,05$), con respecto al control, el título de anticuerpos frente a *P. damselae* subsp. *piscicida* en los dos grupos de *S. senegalensis* tratados. Los valores obtenidos en los peces inoculados con el adyuvante, fueron superiores a los ejemplares inoculados sin el mismo tras 45, 60 y 75 días de la primera vacunación. Sin embargo, la alta variabilidad entre ejemplares registrada en este grupo, hizo que estas diferencias no fueran estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

La tasa específica de crecimiento del grupo control fue de 0,21%. La vacunación disminuyó dicho parámetro (0,12%), siendo el efecto más acusado en el grupo tratado con adyuvante (0,09%).

En cuanto a la sintomatología en vísceras, éstas estaban apelmazadas, siendo difícil despegar el peritoneo. La peritonitis no cursó con infección posterior. En algunos casos se observaron hemorragias sub-peritoneales en esas áreas (Fig. 2 a,b). Se observaron granulomas blancos adheridos a su superficie, particularmente a nivel del intestino e hígado, así como en dichas vísceras (Fig 3.a,b). Estos procesos inflamatorios, de diferente nivel de desarrollo, fueron detectados en todos los ejemplares vacunados con adyuvante.

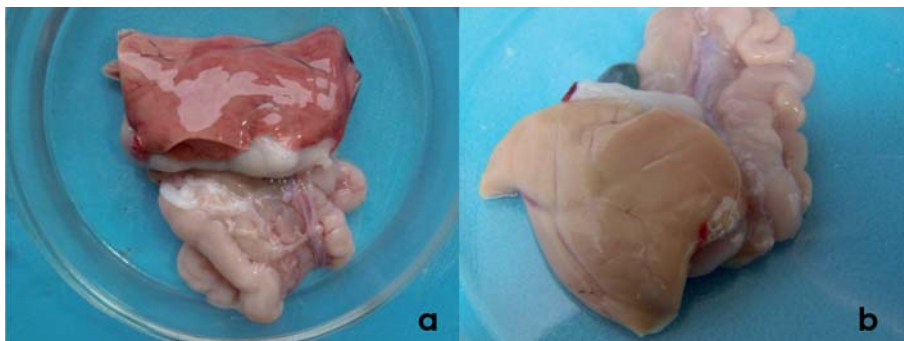


Figura 2.- (a) Hígado sanguinolento de ejemplar vacunado con adyuvante. (b) Hígado de un ejemplar del grupo control.

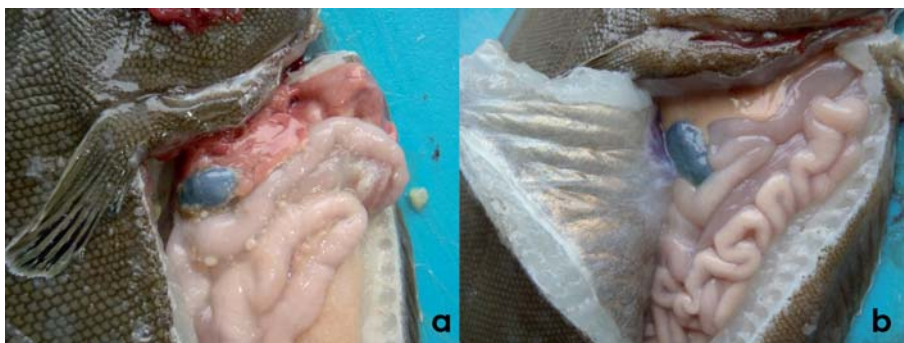


Figura 3.- (a) Granulomas en vísceras de ejemplar vacunado con adyuvante. (b) Vísceras de un ejemplar del grupo control.

DISCUSIÓN

Los ejemplares de lenguado vacunados con la bacterina de *P. damsela* subsp. *piscicida* de la UMA, tanto con adyuvante como sin adyuvante incompleto de Freund, han mostrado un aumento estadísticamente significativo en el nivel de anticuerpos frente a *P. damsela* subsp. *piscicida*, si bien disminuyó el crecimiento de los ejemplares con respecto al grupo control. Este último efecto fue más acusado en el grupo vacunado con el adyuvante incompleto de Freund. Además la utilización de este agente produjo daños macroscópicos en la cavidad intraperitoneal de todos los ejemplares. Dichos daños están posiblemente relacionados con la

falta de enzimas capaces de degradar la porción oleosa del adyuvante y el consiguiente daño celular producido (Gjessing *et al.*, 2012). En la mayor parte de los peces vacunados con el adyuvante, el intestino y el hígado presentaron inflamación y granulomas que condujeron a una peritonitis adhesiva, que no remitió con el paso del tiempo. Este efecto ha sido descrito con anterioridad en salmón (*Salmo salar* L.) y bacalao (*Gadus morhua* L.) (Mutoloki *et al.*, 2010; Gjessing *et al.*, 2012).

Estos resultados indican la necesidad de implementar el protocolo de vacunación con esta vacuna diseñada en la UMA sin el empleo del adyuvante incompleto de Freund.

CONCLUSIONES

La vacunación de lenguados cultivados con la bacterina de *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* incrementó los niveles de anticuerpos específicos en el suero, tanto de los peces que recibieron adyuvante incompleto de Freund como de los que no lo recibieron.

Dados los efectos negativos derivados de la inoculación del adyuvante incompleto de Freund, se hace necesaria la valoración de la necesidad de su empleo en función de los niveles de protección conferidos por la vacuna empleada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Junta de Andalucía la financiación del proyecto con referencia P10-RNM6338. José Alberto Núñez agradece asimismo a la Junta de Andalucía la concesión de su beca de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

Arijo S., Rico R., Chabrilion M., Díaz-Rosales P., Martínez-Manzanares E., Balebona M.C., Magariños B., Toranzo A.E. y Moriñigo M.A. 2005. Effectiveness of a divalent vaccine for sole, *Solea senegalensis* (Kaup) against *Vibrio harveyi* and *Photobacterium damsela* subsp *piscicida*. *Journal of Fish Diseases* 28: 33-38.

Cañavate J.P. 2005 Opciones del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858 para

- diversificar la acuicultura marina. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 21(1-4): 147-154.
- Conceição L.E.C., Ribeiro L., Engrola S., Aragao C., Morais S., Lacuisse M., Soares F. y Dinis M.T. 2007. Nutritional physiology during development of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 268(1-4): 64-81.
- Cooper A.M., Dalton D.K., Stewart T.A., Griffin J.P., Russell D.G. y Orme I.M. 1993. Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice. *Journal of Experimental Medicine* 178:2243-2247.
- Dos Santos N.M.S., Taverne-Thiele J.J., Barnes A.C., Van Muiswinkel W.B., Ellis A.E. y Rombout J.H.W.M. 2001. The gill is a major organ for antibody secreting cell production following direct immersion of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) in a *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* bacterin: an ontogeny study. *Fish & Shellfish Immunology* 11(1): 65-74.
- Gjessing M.C., Falk K., Weli S.C., Koppang E.O. y Kvellestad A. 2012. A sequential study of incomplete Freund's adjuvant-induced peritonitis in Atlantic cod. *Fish & Shellfish Immunology* 32: 141-150.
- Howell B., Conceição L.E.C., Prickett R., Cañavate J.P. y Mañanós E. 2008. Report of the 4th Workshop on the Cultivation of Soles. 4th Workshop on the Cultivation of Soles. 11-14 November Centre of Marine Sciences (CCMAR) University of Algarve Faro (Portugal): 2-7.
- Imsland A.K., Foss A., Conceição L.E.C., Dinis M.T., Delbare D., Schram E., Kamstra A., Rema P. y White P. 2003. A review of the culture potential of *Solea solea* and *Solea senegalensis*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 13(4): 379-408.
- Magariños B., Romalde J.L., Santos Y., Casal J.F., Barja J.L. y Toranzo A.E. 1994. Vaccination trial son gilthead seabream (*Sparus aurata*) against *Pateurella piscicida*. *Aquaculture* 120: 201-208.
- Mutoloki S., Alexandersen S. y Evensen Ø. 2004. Sequential study of antigen persistence and concomitant inflammatory reactions relative to side-effects and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following intraperitoneal injection with oil-adjuvanted vaccines. *Fish & Shellfish Immunology* 16:633-644.
- Mutoloki S., Cooper G.A., Marjara I.S., Koop B.F. y Evensen Ø. 2010. High gene expression of inflammatory markers and IL-17A correlates with severity of injection site reactions of Atlantic salmon vaccinated with oil-adjuvanted vaccines. *BMC Genomics* 11: 336-351.
- Robertson P.A.W., Xu H.S. y Austin B. 1998. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of *Vibrio harveyi* in penaeid shrimp and water. *Journal of*

Microbiological Methods 34: 31-39.

Zarza C. y Padrós F. 2008. An overview of diseases of farmed sole. 4th Workshop on the Cultivation of Soles. 11-14 November Centre of Marine Sciences (CCMAR) University of Algarve Faro (Portugal): 15-16.

Zorrilla I., Balebona M.C., Moriñigo M.A., Sarasquete C. y Borrego J.J. 1999. Isolation and characterization of the causative agent of pasteurellosis, *Photobacterium damsela* ssp. *Piscicida*, from sole, *Solea senegalensis* (Kaup). *Journal of Fish Diseases* 22(3): 167-172.

Variación interanual de la abundancia pesquera en la cuenca alta del río Usumacinta, Tabasco, México

Huerta-Ortiz¹ M., Perera-García² M.A., Hernández-Gómez² R.E., Mendoza-Carranza³ M., Ortiz-Hernández² M.

¹Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas, Carretera Villahermosa-Cárdenas km. 0,5, C.P. 86039, Villahermosa, Tabasco, México.

²Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos s/n. Carretera Tenosique-Estapilla, km 1, Tenosique, Tabasco, México, C.P. 86901.

³El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Villahermosa. Centro, Tabasco, México. Carr. Villahermosa-Reforma s/n km 15,5, Ranchería Guineo 2a C.P. 86280.

mahuor13@hotmail.com

RESUMEN

En la cuenca alta de río Usumacinta, la pesca artesanal es una actividad económica de las comunidades que se encuentran a lo largo de la zona ribereña y costera donde desemboca el río Usumacinta. La explotación pesquera se basa principalmente en especies migratorias y nativas. El objetivo de este trabajo, evaluar la abundancia interanual de las especies de importancia comercial. Se dispuso de las estadísticas registradas de las principales cooperativas de la cuenca, se obtuvieron datos como unidades de pesca, registro de arribos y capturas en kilogramos artes y métodos de pesca. Se determinó la abundancia de un recurso con la ecuación: $CPUE=C$ (captura total/E (esfuerzo pesquero)). Se definió la variación de la abundancia de estas especies a lo largo del tiempo (Gulland 1983; Sparre y Venema, 1995). Se elaboró una comparación porcentual de abundancia y distribución a través de los años. De acuerdo a datos estadísticos obtenidos del año 1990 al 2010 en la cooperativa de San Pedro, Balancán, las especies con mayores capturas fueron once, cuatro son las que presentan mayor valor económico y abundancia de captura en relación a las otras especies, robalo

blanco *Centropomus undecimalis* (38,75%), tilapia *Oreochromis nilotica* (15,70%), tenhuayaca *Petenia splendida* (16,62%) y pinta *Parachromis managuensis* (10,50%). En relación a los datos proporcionados por la cooperativa en Tenosique del año 2008 al 2010, fueron 17 especies con mayores capturas, donde cinco son de mayor importancia económica y abundancia como la pigua *Macrobrachium carcinus* (46,05%), robalo blanco *C. undecimalis* (13,96), carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (12,81%), mojarra blanca *Eugerres mexicanus* (8,57%) y bobo liso *Ictalurus meridionales* (4,89%) (Miller, 1986). Esta situación se puede ver modificada en el caso de las comunidades que se encuentran cerca de los cuerpos de aguas interiores o continentales donde la demanda de los peces de hábitat dulceacuícola puede ser de mayor extracción en comparación con las de origen marino (Lot y Novelo, 1988). En vista de ello, se considera importante continuar evaluando las pesquerías y los efectos en los diferentes *stocks* para un mejor conocimiento del efecto de la sobreexplotación de las especies comerciales y no comerciales para establecer manejo de conservación.

INTRODUCCIÓN

La cuenca hidrológica del río Usumacinta representa aproximadamente los 300 km de extensión (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1985; Chávez *et al.*, 1989). Las comunidades de los municipios de Tenosique y Balancán forman parte de la cuenca alta del río Usumacinta, donde la pesca es la principal actividad económica (Hernández, 1987; Perera-García, 2010). Esta actividad es de autoconsumo y de comercio regional. Sin embargo, la sobre-extracción de las principales especies migratorias y comerciales como la (pigüa *Macrobrachium carcinus*, robalo blanco *Centropomus undecimales*) puede ocasionar la disminución de la diversidad, abundancia y colapso pesquero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se dispuso de la información estadística registrada (bitácoras) de arribo de captura de 1990 a 2010, proporcionadas por la Sociedad Cooperativa de Producción, Pesquera Ribereños de San Pedro, S.C.L, de San Pedro, Balancán y de 2006 al 2010 de la Sociedad Cooperativa de Tenosique, Tabasco. Se obtuvieron datos como: unidades de pesca, registro de arribos y capturas en kilogramos artes y métodos de pesca. Para determinar la abundancia de un recurso se aplicó la siguiente ecuación: $CPUE=C$ (captura total/E (esfuerzo pesquero)). Se

definió la variación de la abundancia de estas especies a lo largo del tiempo (Gulland 1983; Sparre y Venema, 1995). Se elaboró una comparación porcentual de abundancia y distribución a través de los años.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a datos estadísticos obtenidos del año 1990 al 2010 en la cooperativa de San Pedro, Balancán, las especies con mayores capturas son once, siendo cuatro las que presentan mayor valor económico y abundancia de captura en relación a las otras especies, robalo blanco *C. undecimalis* (38,75%), tilapia *Oreochromis nilotica* (15,70%), tenhuayaca *Petenia splendida* (16,62%) y pinta *Parachromis managuensis* (10,50%). En relación a los datos proporcionados por la cooperativa en Tenosique del año 2008 al 2010, son 17 especies con mayores capturas, donde cinco son de mayor importancia económica y abundancia como la pigua *Macrobrachium carcinus* (46,05%), robalo blanco *C. undecimalis* (13,96), *carpa herbívora* *Ctenopharyngodon idella* (12,81%), mojarra blanca *Eugerres mexicanus* (8,57%) y bobo liso *Ictalurus meridionales* (4,89%) (Miller, 1986). En la tabla I, se puede apreciar las especies de mayor abundancia de captura y mayor presión de pesca en la cuenca alta del Usumacinta.

La CPUE no ha sido constante, presentándose un decremento paulatino de las principales especies comerciales y disminución del promedio de la captura. Los kilos de capturas de las principales especies comerciales han variado en los últimos diez años. En San Pedro, Balancán, se presentan los mayores picos de capturas de 1993-1996 con promedios de captura de $29,72 \pm 38,80$ para tilapia, de $21,65 \pm 22,62$ tenhuayaca, $89,33 \pm 169$ robalo, $10,56 \pm 8,2$ pigüa, $5,72 \pm 1,86$ y $6,18 \pm 6,59$ kg de bobo liso. Posteriormente, a partir de 1998 al 2001, se observa un decremento en las capturas del robalo ($41,80 \pm 32,76$), tenhuayaca (7,0 pigüa ($1,36 \pm 1,15$)) y bobo liso ($2,86 \pm 2,34$), presentándose un incremento en el 2002, en el 2003 existe una inestabilidad en las capturas (Fig. 1). Esto se relaciona directamente con un aumento del esfuerzo pesquero. Para el caso de la cooperativa de Tenosique, se observó que del 2006 al 2009 la carpa herbívora, pigüa, robalo, tilapia y curvina han sido las especies que representan las mayores capturas con $78,90 \pm 6,0$, $60,93 \pm 5,2$, $50,52 \pm 2,70$, $23,24 \pm 4,75$, $30,86 \pm 6,14$, respectivamente. A partir del 2010 se presenta una disminución significativa en los promedios de la CPUE de estas especies (Fig. 2).

Tabla I.- Comparación porcentual de abundancia y distribución de peces en la cuenca alta Usumacinta (río San Pedro y río Usumacinta).

Nombre común y científico	% abundancia		Tipo de captura
	Tenosique	San Pedro, Balancán	
Bobo liso <i>Ictalurus meridionales</i>	4,89	7,78	Continua
Carpa herbívora <i>Ctenopharyngodon idella</i>	12,81		Continua
Chopa <i>Ictiobus meridionales</i>	3,82		Temporal
Guabina <i>Gobiomorus dormitor</i>	0,31	0,19	Temporal
Lisa <i>Mugil cephalus</i>	0,41	0,63	Temporal
Mojarra blanca <i>Eugerres mexicanus</i>	8,57		Temporal
Mojarra colorada <i>Cichlasoma bifasciatum</i>	0,92		Continua
Mojarra pozolera <i>Cichlasoma heterospilum</i>	0,83		Continua
Mojarra tilapia <i>Oreochromis niloticus</i>	0,13	15,70	Continua
Mojarra zacatera <i>Cichlasoma pearsei</i>	0,13		Temporal
Mojarra pinta <i>Parachromis managuensis</i>	0,15	10,50	Continua
Pejelagarto <i>Atractosteus tropicus</i>	0,41		Continua
Pigüa <i>Macrobrachium carcinus</i>	46,05	8,20	Continua
Robalo <i>Centropomus undecimalis</i>	13,96	38,75	Continua
Tenhuayaca <i>Petenia splendida</i>	0,13	16,62	Continua
Topuche <i>Aplodinotus grunniens</i>	6,44	1,00	Continua
Macabil <i>Brycon gautemalensis</i>		0,64	Temporal

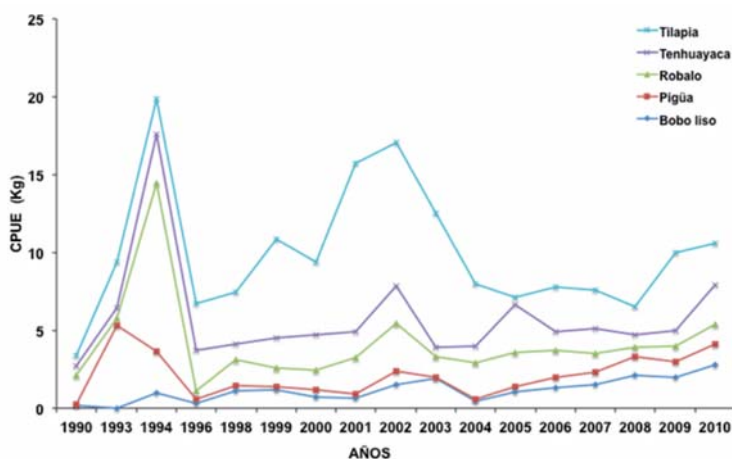


Figura 1.- Variación de la captura por unidad de esfuerzo de 1990-2010 observada en San Pedro, Balancán, Tabasco, México.

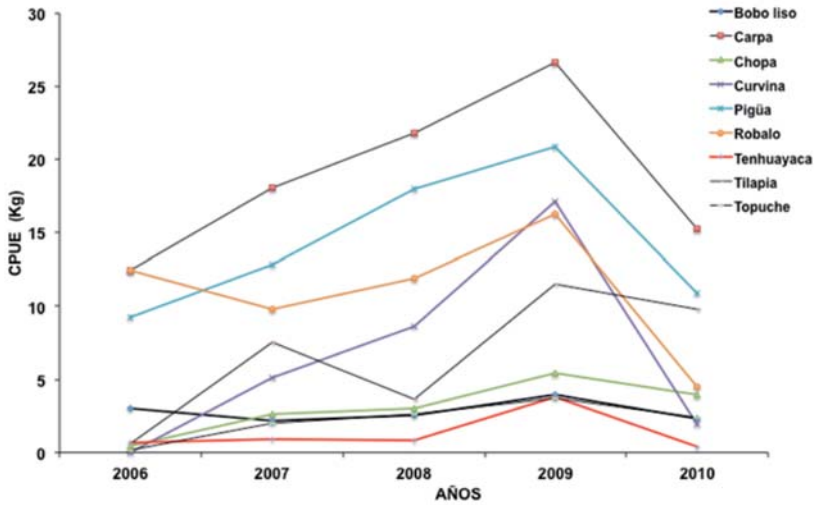


Figura 2.- Variación de la captura por unidad de esfuerzo de 2006-2010 observada en Tenosique, Tabasco, México.

La cooperativa de San Pedro, Balancán, cuenta con 25 embarcaciones y 20 socios y artes de pesca como: robaleras ó chinchorro de hilo de seda, para el caso de la cooperativa de Tenosique, cuenta con 40 lanchas y 35 socios. Las características que presentan muchas especies que son capturadas en esta región son las siguientes: especies que pueden ser capturadas durante casi todo el año y otras especies que se capturan en un periodo estacional principalmente en verano y otoño, cuando algunas especies se agrupan y forman cardúmenes para llevar a cabo migraciones a la costa de Tabasco (p/e. robalos, pigüa, topuche, mojarra blanca y lisa), es durante ese periodo que se lleva a cabo el mayor volumen de captura de especies marinas. En este marco podemos dar a los peces dos tipos de importancia de acuerdo con el papel que juega en la visión del hombre, y a pesar de que esta visión sea un poco limitada es con la que se cuenta, una de visión económica-explotación y otra de conservación (Barrientos, 1999; Kumpf *et al.*, 1999). Esta situación se puede ver modificada en el caso de las comunidades que se encuentran cerca de los cuerpos de aguas interiores o continentales donde la demanda de los peces de hábitat dulceacuícola pueden ser de mayor extracción en comparación con las de origen marino (Lot y Novelo, 1988). Todo ello conduc considerar de alta importancia la evaluación continua de las pesquerías y los efectos en los diferentes stocks para un mejor conocimiento del efecto de la sobreexplotación de las especies comerciales y no comerciales para establecer manejo de conservación.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrientos C.C.A. 1999. Caracterización de la ictiofauna con importancia alimenticia de los ríos San Pedro y Sacluc, en el área de influencia de la estación biológica “Las Guacamayas”, departamento del Petén, Guatemala. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad de San Carlos, Guatemala, 35 p.
- Chávez L.M.O., Deberse B., Hernández A.M., Pérez M.H., Mendoza E.Q.M. y Gómez M.A.G. 1989. Valoración del delta de los ríos Grijalva y Usumacinta (Memorias). (eds. INIREB y Gobierno del Estado de Tabasco). pp.714.
- Hernández S.A. 1987. Biología y pesquería del robalo blanco (*Centropomus undecimalis*) (Bloch) en el río San Pedro, Tabasco. Tesis de Licenciatura en Acuicultura. ITMAR, Boca del Río, Ver. 65 pp.
- Kumpf H., Steidinger K. y Sherman K. 1999. The Gulf of Mexico Large Marine Ecosystem: Assessment, Sustainability and Management (Eds). Blackwell Science, Malden, Massachusetts, pp.704.
- Lazcano-Barrero M.A., March I.J y Vásquez-Sánchez M.A. 1992. Importancia y situación actual de la selva Lacandona: perspectivas para su conservación. (eds. M.A. Vásquez-Sánchez y M.A. Ramos Eds.). Reserva de la Biosfera Montes Azules, Selva Lacandona: Investigación para su conservación. Pub. Esp. *Ecosfera* 1: 393-437.
- Lot A. y Novelo A. 1988. El pantano de Tabasco y Campeche: la reserva más importante de plantas acuáticas de Mesoamérica. En: Ecología y Conservación del Delta de los ríos Usumacinta y Grijalva. Memorias. INIREB-Tabasco. Gobierno del Estado de Tabasco. México, pp. 537-547.
- Miller R. 1986. Geographical distribution of Central America freshwater fishes. *Copeia* 4:773-802.
- Perera-García M.A. 2010. Parámetros poblacionales del robalo blanco (*Centropomus undecimalis*) y caracterización socioambiental de su pesquería en el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta, México. Tesis de Doctorado. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco. 135 p.
- Yáñez-Arancibia A., Sánchez-Gil P. y Rodríguez R. 1985. Distribución y abundancia de las especies dominantes en las poblaciones de peces demersales de la Plataforma Continental Mexicana del Golfo de México. (ed. Yáñez-Arancibia, A.) México, D.F. pp. 315-398.

Viabilidad y condiciones del cultivo del misidáceo *Gastrosaccus roscoffensis* (Peracarida, Mysida)

Escáñez^{1,5} A., Riera² R., Márquez³ L., Skalli⁴ A., Felipe⁵ B., García-Herrero^{1,5} I., Reis^{1,5,6} D., Rodríguez¹ C., Almansa⁵ E.

¹Departamento de Biología Animal, Universidad de La Laguna, Avenida Astrofísico Francisco Sánchez, 38206. La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, España.

²Centro de Investigaciones Medioambientales del Atlántico (CIMA S.L), Arzobispo Elías Yanes 44, 38206. La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, España.

³Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería, Ctra. Sacramento s/n, La Cañada de San Urbano, 04120, Almería, España.

⁴Unitat de Cultius Aquàtics, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Crta. Poble Nou, km 5.5, Sant Carles de la Ràpita, 43540 Tarragona, España.

⁵Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Canarias, Planta Experimental de Cultivos Marinos, Dársena Pesquera de San Andrés, 38180, Santa Cruz de Tenerife. España.

⁶CCMar, Campus de Gambelas, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, 8005-139, Faro, Portugal.

aescanez@msn.com

RESUMEN

En los últimos años los investigadores han buscado presas alternativas para sustituir a las utilizadas tradicionalmente en acuicultura como la *Artemia* y los rotíferos (*Brachionus* sp.). Los misidáceos han sido considerados previamente como presas alternativas para algunas especies de interés comercial, principalmente cefalópodos como la Sepia (*Sepia* sp.), dando buenos resultados. Debido a la necesidad de encontrar presas alternativas que cumplan determinadas condiciones como tamaño, movilidad, palatabilidad y composición nutricional adecuada a las especies de interés acuícola, se ha investigado la viabilidad del cultivo de

una especie de misidáceo común en aguas de las Islas Canarias; *Gastrosaccus roscoffensis* Băcescu, 1970. Los efectos de las condiciones de cultivo sobre el crecimiento, supervivencia, alimentación y la composición nutricional de *Gastrosaccus roscoffensis* fueron estudiadas en este trabajo. Bajo condiciones de iluminación (120 lux) se obtuvieron resultados negativos en cuanto a la tasa de depredación sobre los nauplios de *Artemia* por parte de *Gastrosaccus roscoffensis*. El tamaño del misidáceo depredador fue otro factor importante en cuanto a la tasa de depredación sobre rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y *Artemia*. La tasa de crecimiento de este misidáceo fue elevada durante las tres primeras semanas de vida, alcanzando tallas superiores a 7 mm de longitud en seis semanas. Se registraron dos picos de elevada mortalidad en los individuos juveniles nacidos en cautividad, obteniéndose supervivientes tras los primeros 50 días de vida. La composición en clases lipídicas de los juveniles de *Gastrosaccus roscoffensis* mostraron diferencias en comparación con ejemplares salvajes y otras especies de misidáceos, con un contenido elevado de lípidos neutros (72,04% de los lípidos totales) siendo estos compuestos principalmente por triacilglicéridos (41,74%). La composición en ácidos grasos estuvo caracterizada por los altos valores en 18:3n-3 (23,16% de los lípidos totales) y ácidos grasos monoinsaturados. Los experimentos realizados muestran la viabilidad del cultivo del misidáceo *Gastrosaccus roscoffensis* bajo condiciones de cultivo determinadas.

PALABRAS CLAVE

Gastrosaccus roscoffensis, cultivo, composición.

INTRODUCCIÓN

La nutrición de los organismos marinos es una de las áreas más importantes de investigación desarrolladas en el campo de la acuicultura, dado que la nutrición de las especies acuícolas representa uno de los problemas más difíciles de superar para conseguir una producción comercialmente rentable de dichas especies. El principal cuello de botella de la acuicultura intensiva se produce durante las fases larvarias, debido a la incorrecta alimentación. Esto conlleva elevadas tasas de mortalidad durante las fases larvarias y por tanto a un bajo rendimiento o inviabilidad de los cultivos. La alimentación de las fases larvarias se realiza tradicionalmente con especies de microinvertebrados, siendo las más utilizadas en acuicultura los rotíferos (*Brachionus plicatilis* Müller, 1786) y la *Artemia* sp. Leach, 1819

(Stottrup y McEvoy, 2003). Sin embargo no cumplen todos los requerimientos nutricionales de las etapas larvianas de las especies acuícolas siendo necesario el enriquecimiento de los rotíferos y la *Artemia*, especialmente con ácidos grasos polinsaturados (LC-PUFA). Otra medida que se ha considerado es emplear presas alternativas a los rotíferos o la *Artemia* como por ejemplo los misidáceos.

Los misidáceos fueron considerados como presas alternativas interesantes para cultivos de especies comerciales principalmente de cefalópodos como el choco (*Sepia officinalis* Linnaeus, 1758). Existen varios estudios sobre el uso de diferentes especies de misidáceos para estos fines, como el caso de; *Mysidopsis almira* Bowman, 1964 (Domingues *et al.*, 1998, 1999, 2001), *Mysis mixta* Lilljeborg, 1852 (Gorokhova y Hansson, 2000), *Mysis relicta* Lovén, 1862 (Viherluoto *et al.*, 2000) y *Neomysis integer* Leach, 1814 (Gorokhova, 2002).

Este trabajo se ha centrado en investigar las condiciones de cultivo y sus efectos sobre el crecimiento, depredación y supervivencia de una especie local de misidáceo, *Gastrosaccus roscoffensis*. Esta especie de misidáceo nerítico por lo general se considera omnívora, basando su dieta principalmente en detritus y pequeños organismos plantónicos que capturan mediante filtración con apéndices especializados (Johnston y Lasenby, 1982). Se ha escogido esta especie debido a varios motivos: (i) se trata de una especie local que se encuentra en el las aguas de Canarias de forma natural, por lo que su cultivo no conlleva ningún riesgo para el ecosistema respecto a introducciones o invasiones biológicas; (ii) sus características de tamaño y movilidad la hacen adecuada como presa viva para estados larvianos de especies de cefalópodos principalmente, así como también especies de peces y crustáceos; (iii) su alimentación de tipo omnívora *a priori* supone una ventaja a la hora de formular su dieta.

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPTURA DE INDIVIDUOS Y ESTABILADO

Los individuos de *G. roscoffensis* utilizados en el presente estudio fueron capturados en la playa de “Las Gaviotas” en el Noroeste de la isla de Tenerife, mediante redes de arrastre manual. Los individuos fueron transportados al laboratorio (IEO-Canarias) y se mantuvieron en tanques de 100 L de capacidad en oscuridad, con renovación (200% día) y una densidad de 5 ind/L, alimentados *ad-libitum* con 100 nauplios de *Artemia*/misidáceo.día y fitoplancton (*Chorella* sp.) con una densidad de 10^{10} células/tanque. Una submuestra de los ejemplaros fueron muestreados en frío conservados en congelación a -80°C , para análisis bioquímicos.

CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

El estudio del crecimiento y supervivencia de los misidáceos fue realizado en tanques de 4 L de volumen en condiciones de oscuridad (0 Lux) y luminosidad (120 Lux), con aireación continua y renovación del agua completa cada 5 días. La densidad inicial de misidáceos fue de 5 ind/L y fueron alimentados *ad-libitum* con 100 nauplios de *Artemia*/misidáceo.día, 200 rotíferos/misidáceo.día y fitoplancton (*Chorella* sp.) a una densidad de $4 \cdot 10^8$ cls/tanque. Los experimentos fueron realizados por triplicado. Para determinar la supervivencia de los individuos, se mantuvieron juveniles recién nacidos y fueron contados cada 9 días. La supervivencia fue expresada como un porcentaje respecto los misidáceos iniciales según la fórmula: % de Supervivencia = (juveniles el día N)/(n° de juveniles iniciales) x 100.

El crecimiento fue determinado en función de la longitud del cuerpo, tomada desde el rostrum hasta el último somito abdominal, de diez misidáceos medidos con lupa estereoscópica (Nikon SMZ-10A) con un aumento de 5x. La curva de Longitud-Edad fue descrita por la función de crecimiento de von Bertalanffy (VBGF); $L_t = L [1 - e^{-k(t-t_0)}]$, donde L_t es la longitud del cuerpo (mm), para un día t en días, L es la máxima longitud del cuerpo (mm); k es el radio de crecimiento y t_0 longitud del cuerpo para el primer día (edad = 0). (Von Bertalanffy, 1938).

EXPERIMENTOS DE PREDACIÓN Y ANÁLISIS

Se diseñaron dos experimentos para determinar la eficiencia de la depredación de *G. roscoffensis*: i) un experimento multifactorial (4 factores) y poco replicado (x3) y ii) un experimento bifactorial con un elevado número de réplicas (x7). En cada experimento la variable dependiente fue el número de presas consumidas. El experimento consistió en probar un único depredador estabulado en un disco de Petri que contenía 30 ml de agua de mar a 25°C. Los factores testeados en el experimento multifactorial fueron la intensidad de la luz, a dos intensidades distintas (120 lux y 0 lux), especie de presa (nauplios de *Artemia* y rotíferos (*Brachionus* sp.)), tamaño del misidáceo depredador (juveniles ó adultos) y la el número inicial de presas, con un rango de 9 a 21 presas por cada placa Petri, como co-variable. El tiempo de cada ensayo fue de 2 horas. Los factores en el experimento bifactorial fueron la intensidad de luz (120 lux ó 0 lux) y el tamaño del misidáceo depredador (juveniles ó adultos); el número inicial de presas fue fijado a 10 nauplios de *Artemia* por cada placa de Petri y la duración del ensayo fue de 4 horas.

Cada ensayo fue analizado mediante un Modelo lineal Generalizado (GML) (Agresti, 2007). En primera instancia fue escogido un modelo GML con una distribución de Poisson y un enlace logarítmico. Se calculó el cociente (verosimilitud)/(grados de libertad), para detectar la posible sobredispersión; en este caso los datos se reanalizaron utilizando un

modelo GML con binomial negativa con enlace logarítmico y con parámetros de escala entre un intervalo de 0,25-2,0. El modelo de mayor verosimilitud fue seleccionado.

Se produjo un aviso sobre la matriz hessiana que se produce con el algoritmo cuando se analizan los datos a partir del experimento bi-factorial. La posible causa de este aviso es la presencia constante de ceros (0) en los datos de entrada en el experimento de predación de juveniles de misidáceos sobre nauplius de *Artemia* bajo condiciones de iluminación; este hecho implica que la varianza de los datos sea 0. Por esta razón se decidió modificar ligeramente los datos de entrada con la sustitución de los ceros (0) por unos (1). Los datos al volver a ser analizados no muestran mensajes de advertencia.

En el ensayo multifactorial, la variable independiente (número inicial de presas) no es fijo, ya que se encuentra incluido como una variable compensada para estandarizar los intentos de predación con respecto al número de presas expuestas a ese riesgo. En este caso, la variable dependiente utilizada fue el consumo proporcional, es decir el porcentaje de presas consumidas respecto al número inicial de presas a las que se expuso al individuo.

ANÁLISIS BIOQUÍMICOS

Se utilizaron 3 muestras, en ellas se determinó la humedad mediante su desecado a 110°C hasta que las muestras mantuvieron un peso constante con una adaptación del método de Horwitz (1980). También se determinó el contenido en cenizas siguiendo los métodos oficiales de la Asociación de Química Analítica (AOAC 2006), por tratamiento de las muestras a 450°C. El peso húmedo y la materia orgánica fueron determinados gravimétricamente.

La extracción de lípidos se realizó siguiendo el método modificado de Christie (1982). El contenido lipídico fue determinado gravimétricamente tras una extracción con Cloroformo: metanol (2:1) utilizando como antioxidante Butilhidroxitolueno (BHT). Las clases lipídicas fueron determinadas mediante Cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) y densometría (CS-9001PC Dual-Wavelength Flying Spot Scanner; Shimadzu), siguiendo el método de Olsen y Henderson (1989).

Los ácidos grasos fueron obtenidos por transmetilación y purificación de los lípidos totales acorde con el método de Olsen y Henderson (1989). Tras la purificación, los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron identificados y cuantificados mediante Cromatografía de gases (GC-14A; Shimadzu) usando como patrón estándar interno el ácido nonadecanoico (19:0).

La determinación del contenido en proteínas totales se realizó mediante el método modificado de Kjeldahl (AOAC, 2006). Las proteínas totales fueron calculadas a partir del contenido de nitrógeno total de las muestras.

RESULTADOS

EXPERIMENTOS DE PREDACIÓN

La luz tuvo un efecto negativo generalizado en los ensayos, la proporción del consumo fue aproximadamente reducida 1% cuando los misidáceos depredaban sobre nauplios de *Artemia* y un 75% cuando depredaban sobre rotíferos (Tabla I). Por el contrario, el efecto del tamaño del misidáceo fue positivo en los experimentos bajo iluminación, más claramente visibles cuando los misidáceos depredaban sobre nauplios de *Artemia* que sobre rotíferos (Tabla I). En cualquier caso, la interpretación de estos factores fue distorsionada por la interacción triple de los factores, debilitando el efecto de la inhibición por iluminación de la tasa de predación de los adultos que se alimentaron con nauplios de *Artemia*.

Tabla I.- Media y desviación estándar proporcional de los ratios de consumo de los juveniles y adultos de *G. roscoffensis*, bajo diferentes condiciones ambientales.

Exp.	Presa	Tamaño predador	Luz	Media de presas iniciales	Ratio de consumo proporcional (h ⁻¹)
4-factor	<i>Artemia</i>	Juveniles	0	15,5	0,298 ± 0,016
			1	11,3	0,035 ± 0,018
		Adultos	0	10,8	0,205 ± 0,089
			1	10,7	0,226 ± 0,089
	<i>Brachionus</i>	Juveniles	0	13,0	0,171 ± 0,038
			1	16,0	0,080 ± 0,027
		Adultos	0	15,5	0,179 ± 0,017
			1	15,0	0,059 ± 0,033
2-factor	<i>Artemia</i>	Juveniles	0		0,036 ± 0,020
			1	10,0	0
		Adultos	0	(n° fijado)	0,061 ± 0,014
			1		0,039 ± 0,023

Los efectos de la luz sobre la depredación de los individuos de *G. roscoffensis* fue significativo en ambos experimentos (Experimento multifactorial $R = 13,65$, $p = 0,000$. Experimento bifactorial $R = 4,164$, $p = 0,041$), siendo más notable particularmente en el experimento multifactorial. El único factor significativo en el experimento bifactorial fue el tamaño del misidáceo predador ($R = 4,764$, $p = 0,029$), finalmente la triple interacción entre las variables (tipo de presa x tamaño del misidáceos x intensidad lumínica) mostraron efectos significativos en el experimento multifactorial ($R = 6,215$, $p = 0,013$) (Tabla II).

Tabla II.- Factores que afectan al ratio de la depredación de *G. roscoffensis* bajo condiciones experimentales. Diferencias significativas en negrita.

Exp.	GLM	Bondad del ajuste	Factores	Wald	d.f.	p
4-factor	Distribución de Poisson Log-link Offset = No. initial prey	LL = -45,4 Deviance = 20,3 d.f. = 16 Dev./df = 1,18	Presa	0,350	1	0,554
			Luz	13,65	1	0,000
			Tamaño Misid.	1,319	1	0,251
			Presa × Luz	0,779	1	0,377
			Presa × Tamaño	3,260	1	0,071
			Luz × Tamaño	2,901	1	0,089
			Presa×Luz×Tamaño	6,215	1	0,013
2-factor	Dist. Binomial Negativa (scale parameter = 1) Log-link No Offset variable	LL = -41,1 Deviance = 25,1 d.f. = 24 Dev./df = 1,05	Tamaño Misid.	4,764	1	0,029
			Luz	4,164	1	0,041
			Tamaño × Luz	1,937	1	0,164

SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO

El cultivo de *G. roscoffensis* mostró dos fuertes puntos de mortalidad durante el periodo de cultivo, entre el noveno y décimo día de cultivo, la mortalidad en este tiempo aumentó bruscamente de un 20% a un 60%. El segundo episodio de mortalidad ocurrió el día 28 después de su inicio. En el segundo experimento el pico de mortalidad se produjo entre

los días 40-43 (Fig. 1). La curva de crecimiento para el misidáceo *G. roscoffensis* se muestra en la figura 2. La talla inicial de los individuos fue de $2,7 \pm 0,2$ mm., creciendo hasta $7 \pm 0,8$ mm como talla media a los 65 días de edad.

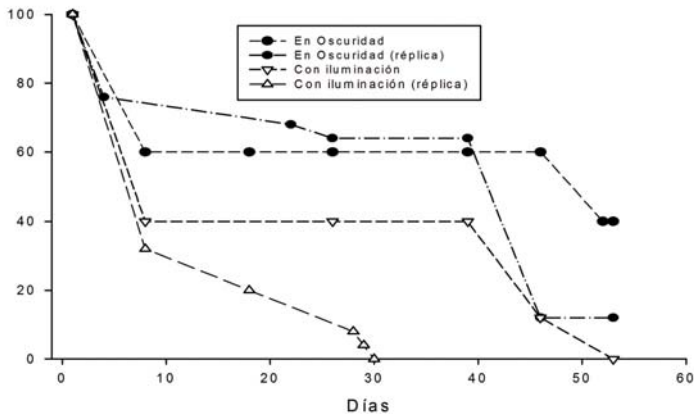


Figura 1.-Tasa de supervivencia de los juveniles de *Gastrosaccus roscoffensis*.

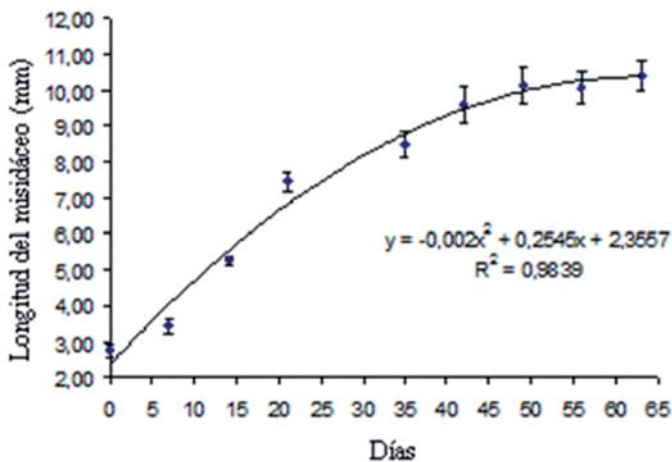


Figura 2.- Curva de crecimiento de Von Bertalanffy de la longitud total de *G. roscoffensis*.

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La composición nutricional de *G. roscoffensis* fue analizada en juveniles nacidos en cautividad y alimentados como se describió en el apartado anterior. El contenido en cenizas, proteínas totales (PT), lípidos totales (LP) y clases lipídicas de *G. roscoffensis* se muestran en la figura 3. Los ácidos grasos, polinsaturados (PUFA) y monoinsaturados (MUFA) así como los ácidos grasos saturados se muestran en la figura 4.

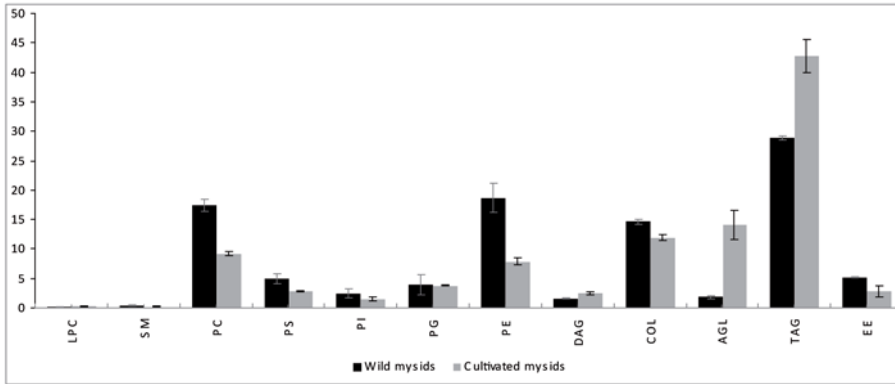


Figura 3.- Clases lipídicas (% medios de lípidos totales).

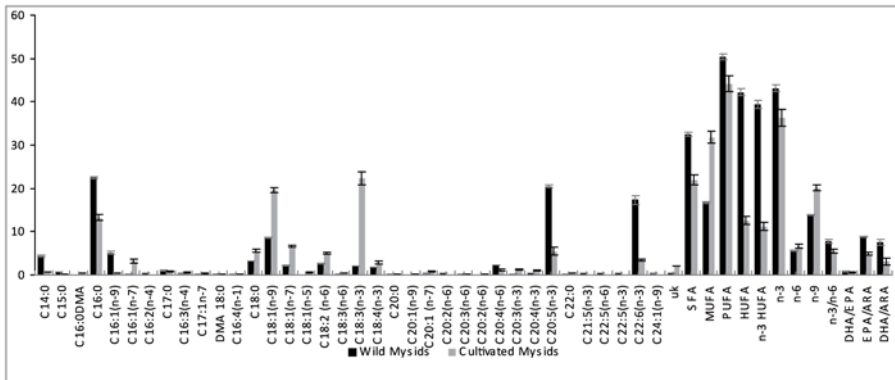


Figura 4.- Composición de ácidos grasos en juveniles de *G. roscoffensis* salvajes y cultivados (% medio en peso).

BIBLIOGRAFÍA

- Agresti A., 2007. An Introduction to Categorical Data Analysis. 2nd Ed. Editorial Wiley.
- A.O.A.C., 2006. Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. Official method 942.05.
- Domingues P., Turk P.E., Andrade J.P., Lee P.G. 1998. Pilot-scale production of mysid shrimp in a static water system. *Aqua Int.* 6: 387-402.
- Domingues P.M., Turk P.E., Andrade J.P., Lee P.G., 1999. Culture of the mysid, *Mysidopsis almyra* (Bowman), (Crustacea: Mysidacea) in a static water system: effects of density and temperature on production, survival and growth. *Aqua Res* 30: 135-143.
- Domingues P.M., Turk P.E., Andrade J.P., Lee P.G. 2001. Effects of different food items on the culture of the mysid shrimp *Mysidopsis almyra* (Crustacea: Pericaridea) in a static water system. *Aqua Int.* 9: 393-400.
- Gorokhova E. 2002. Moults cycle and its chronology in *Mysis mixta* and *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea): implications for growth assessment. *J Exp Mar Biol Ecol* 278: 179-194.
- Gorokhova E., Hansson S. 2000. Elemental composition of *Mysis mixta* (Crustacea: Mysidacea) and energy costs of reproduction and embryogenesis under laboratory conditions. *J Exp Mar Biol Ecol* 246: 103-123.
- Horwitz W. 1980. Methods of Analysis, 13th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Johnston N.T., Lasenby D.C. 1982. Diet and feeding of *Neomysis mercedis* Holmes (Crustacea, Mysidacea) from the Fraser River Estuary, British Columbia. *Can J Zool* 60 (5): 813-824.
- Olsen R.E., Henderson R.J. 1989. The rapid analysis on neutral and polar marine lipids using double development HPTLC and scanning densitometry. *J Exp Mar Biol Ecol*, 129: 189-197.
- Stottrup J., McEvoy L.A., 2003. Live feeds in marine aquaculture. Blackwell, Oxford, 318 pp.
- Viherluoto M., Kuosa H., Flinkman J., Viitasalo, M., 2000. Food utilisation of pelagic mysids, *Mysis mixta* and *M. relicta*, during their growing season in the northern Baltic Sea. *Mar Biol* 136: 553-559.
- von Bertalanffy L. 1938. A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws). *Hum Biol* 10(2): 181-213.

ÍNDICE DE AUTORES..... PÁX

Aceituno P.....	575, 601
Acosta V.....	613
Aguirre E.....	207, 297
Alarcón F.J.....	167, 471, 695
Aliaga, V.....	63
Almansa E.....	357, 723
Álvarez P.....	421, 429
Alves A.....	307, 315, 323, 331, 339
Aponte A.....	613
Araújo R.....	307, 315, 323, 331, 339
Arijo S.....	707
Baldisserotto B.....	383, 507, 645
Balebona M.C.....	707
Bandarra N.M.....	239
Barreiro Rios M.B.....	27
Barro S.....	207, 297
Barros A.....	167, 471, 695
Batista F.M.....	239

Becker A.....	507, 645
Belmonte A.	63
Bertolotti M.I.	225, 275, 629
Bruzón M.A.	217
Buono J.	275, 629
Cabrera R.	545
Camacho J.....	167
Canteras J.C.	657
Cañavate J.P.	143
Cárdenas S.	183, 197, 439, 449, 565, 107, 589
Carrasco N.	575, 601
Carreira G.....	307, 315, 323, 331, 339
Casademont P.....	545
Casal A.....	263
Cassanelli M.....	275
Castro A.M.....	131
Cerón M.C.....	167, 471, 695
Clemente P.	307, 315, 323, 331, 339
Compairé J.C.....	545
Conceição L.E.C.	555
Contreras-Sánchez W.M.	37
Cordero M.L.	695

Cortina-Burgueño A.....	263
Costas D.....	263
Cunha M.A.....	507
de las Heras V.....	371, 555
Delgado M.	251, 347
Dellingher T.	307, 315, 323, 331, 339
Dias J.....	555
Errazti E.....	225, 275, 629
Escáñez A.....	671, 723
Felipe B.C.....	357, 723
Fernández M.	131, 421
Forja J.M.....	157, 281, 501, 533
Furones D.....	575, 601
Gairin I.....	601
García de la Banda I.....	657, 707
García J.F.	131
García L.	217
García L.O.....	383
García P.J.....	131
García S.....	207, 297
García-Fuentes A.	157
García-Gallego M.	197, 449, 589

García-Herrero I.....	723
García-Mesa S.....	197, 449, 589
Garrido A.	487
Garrido D.	357
Gaspar M.....	347
Goíz A.R.	307, 315, 323, 331, 339
Gómez-Enri J.	545
Gómez-Parra A.....	281
Gonçalves A.	239
Gonçalves J.....	307, 315, 323, 331, 339
Gonçalves R.....	357
González Á.F.....	671
González-Henríquez N.....	307, 315, 323, 331, 339
Grade A.	239
Gualdoni P.....	225, 275, 629
Guerra Á.	671
Guerrero D.	461
Gurgel H.....	533
Gutiérrez J.M.	63
Gutiérrez J.R.	707
Hachero I.....	695
Hernández-Gómez R.E.	37, 717

Herrera M.....	695
Hidalgo F.....	421, 429, 487
Hidalgo L.	167, 471, 695
Huerta-Ortiz M.....	37, 717
Janse J.	393
Jiménez J.A.....	167, 471
Jiménez M.T.....	565
Jiménez R.....	131
Jover M.	107
Juárez A.....	251
Lobo C.	657, 707
Lodeiros Seijo C.	47
Lopes J.C.O.....	681, 689
López G.....	471, 695
López-Figueroa F.	167
Lorenzo García J.L.....	27
Loro V.L.....	507, 645
Lubián L.M	157, 263
Macías D.	77
Macías-Sánchez M.D.....	471, 695
Mancera J. M.	407, 167, 371, 383, 393, 507, 521, 645
Manent P.....	307, 315, 323, 331, 339

Marengo J.L.	439
Márquez L.	723
Martín M.V.	357
Martínez E.	251, 347
Martínez T.F.	167, 183, 197, 239, 449, 471, 589, 695
Martínez-Prados A.	183
Martínez-Rodríguez G.	371, 383, 407, 555, 645
Martos-Sitcha J.A.	371, 383, 555, 645
Mata J.A.	371, 555
Mendes C.	681, 689
Mendoza H.	307, 315, 323, 331, 339
Mendoza-Carranza M.	37, 717
Menezes C.C.	507, 645
Molina B.	183
Moreno-Ventas X.	657, 707
Moriñigo M.A.	167, 657
Moura P.	347
Moyano F. J.	407, 217, 521
Muñoz J.L.	439
Norman C.	421, 461, 487, 429
Núñez-Díaz J.A.	707
Ojeda J.	121

Oliva M.	131
Oliveira M.	239
Orol D.	357
Ortega C.	461
Ortega T.	501, 533
Ortiz-Hernández M.	717
Pagani A.	225, 275, 629
Paredes E.	263
Pazos G.	657
Perán A.	63
Perera E.	407
Perera-García M.A.	37, 717
Pérez-Dieguez L.	307, 315, 323, 331, 339
Ponce R.	281
Prati R.L.	383
Prieto A.	47, 613
Prieto L.	77
Pujante I.M.	521
Quinteiro J.	307, 315, 323, 331, 339
Reis D.	357, 723
Rey-Méndez M.	307, 315, 323, 331, 339
Riera R.	671, 723

Rodiles A.....	695
Rodríguez C.....	357, 657, 723
Rodríguez-Castro J.....	307, 315, 323, 331, 339
Rodríguez-Rúa A.....	589
Rojas M.....	575, 601
Ruano F.....	239
Ruiz L.....	613
Ruiz Ríos L.....	95
Ruiz-Castrillón E.....	281
Ruiz-Jarabo I.....	393, 507
Saavedra M.....	183, 439
Sáez M.I.....	183, 197, 239, 449, 589
Salbego J.....	383, 507, 645
Sanjuan A.....	681, 689
Santamaría F.J.....	357
Serra S.....	239
Silva L.....	251, 347
Silva R.....	681, 689
Skalli A.....	723
Soriguer M.C.....	545
Suarez M.D.....	239, 197, 183, 449, 589
Suárez-Míler M.M.....	565

Sykes A.V.....	357
Tobeña M.	671
Toni C.....	383, 507, 645
Toribio A.	207, 297
Valiente S.	533
Venegas E.....	239
Villagrán E.R.....	131
Visintini-Adomaitis N.....	501
Vizcaíno A.J.	167, 471, 695
Yamuza M.P.	217
Yúfera M.....	371, 555
Zheng X.	357

