



Instituto Español de Oceanografía  
Centro Oceanográfico de Vigo

**Protocolos de captura, acondicionamiento y  
cultivo de la merluza europea *Merluccius  
merluccius L.***

José Iglesias, Juan José Otero, María Jesús Lago, Castora Gómez, Lidia Fuentes

## **CONVOCATORIA XIII PREMIO JACUMAR DE INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA**

<b>1. TRABAJO QUE OPTA AL PREMIO .....</b>	<b>3</b>
I.-RESUMEN .....	3
PALABRAS CLAVE .....	3
II.-INTRODUCCIÓN .....	4
III.- CAPTURA DE EJEMPLARES, TRANSPORTE Y ACLIMATACIÓN .....	6
IV.-ALIMENTACIÓN EN CAUTIVIDAD.....	10
V.-OBTENCIÓN DE PUESTAS VIABLES.....	13
VI.-CONSUMO DEL SACO VITELINO: CARACTERÍSTICAS DE LAS LARVAS RECIÉN ECLOSIONADAS .....	16
VII.-ADHERENCIA DE LA GOTA DE GRASA. CONTROL DE CALIDAD LARVARIA .....	18
VIII.-CULTIVO LARVARIO. PRIMERA ALIMENTACIÓN VIVA .....	21
IX.- CULTIVO LARVARIO SEMIINTENSIVO. CRECIMIENTO HASTA LOS 250 DÍAS DE VIDA .....	23
X.-CONCLUSIONES.....	29
XI.- BIBLIOGRAFIA .....	30
<b>2. RELACIÓN DE REVISTAS TÉCNICAS EN LAS QUE SE HA PUBLICADO EL TRABAJO, O BIEN AVANCES O RESÚMENES DEL MISMO.....</b>	<b>33</b>
<b>3. RELACIÓN DE CONGRESOS EN LOS QUE SE HA PRESENTADO EL TRABAJO .....</b>	<b>34</b>
<b>4. CURRÍCULO DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>5. MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS A LA EMPRESA PRIVADA YA EFECTUADA O EN PREVISIÓN, ASÍ COMO LA JUSTIFICACIÓN DE LOS MISMOS (CERTIFICADOS, CONTRATOS, CONVENIOS, ETC.) .....</b>	<b>35</b>
<b>6. PATENTES DEL EQUIPO.....</b>	<b>37</b>
<b>7. MEMORIA EN LA QUE SE DESCRIBEN LOS RECURSOS HUMANOS, TÉCNICOS Y ECONÓMICOS EMPLEADOS EN LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO, ASÍ COMO LOS RESULTADOS OBTENIDOS RESPECTO A SU APLICACIÓN PRÁCTICA EN LAS EMPRESAS DE ACUICULTURA .....</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>43</b>

# 1. Trabajo que opta al Premio

## ***I.-RESUMEN***

En este trabajo recopilatorio se establecen las pautas para capturar, acondicionar y cultivar larvas de la merluza europea. Se ha comprobado la eficacia de un arte de arrastre específico para la captura de merluza y un método de punción abdominal de la vejiga natatoria para la recuperación de los ejemplares capturados. El uso de agua fría (14-16°C), tanques isotermos, penumbra y oxígeno a saturación, constituyen los parámetros fundamentales para un correcto acondicionamiento y transporte de los ejemplares capturados

El bolo o lanzón vivo es un alimento idóneo para la merluza durante el primer mes de acondicionamiento, pasando posteriormente a sardina congelada y a un pienso húmedo elaborado en el IEO.

En la primera puesta espontánea obtenida en España (abril 2009), se determinó que los huevos son transparentes, esféricos y tienen un diámetro medio de 1.07 mm. Las larvas recién nacidas poseen una longitud media de 3.20 mm. El desarrollo embrionario a 14°C dura tres días y el consumo del saco vitelino 6, momento en que comienzan a alimentarse.

El protocolo de cultivo larvario se puede ya iniciar con nauplios de Artemia. La densidad de cultivo larvario debe ser 10 ind L<sup>-1</sup> y la densidad inicial de presas de 0.2 ind mL<sup>-1</sup>. Una temperatura fría, en el rango de 14-15°C es fundamental para desarrollar los procesos de incubación y cultivo larvario.

La adherencia de la gota de grasa en la parte posterior del vitelo de las larvas recién nacidas, constituye un factor determinante a la hora de definir la calidad de las larvas y el éxito posterior del cultivo larvario. A partir del segundo mes de vida el canibalismo constituye el factor que más influye la mortalidad posterior de los juveniles.

Finalmente, se demuestra la buena aceptación de los misidáceos como dieta intermedia entre la Artemia y el pienso seco.

## ***Palabras clave***

*Merluccius merluccius*, merluza, captura, transporte, aclimatación, huevos, larvas, primera alimentación, gota de grasa, cultivo larvario.

## **II.-INTRODUCCIÓN**

Este trabajo inédito, redactado especialmente para concurrir al Premio JACUMAR constituye una recopilación de las actividades de investigación, realizadas en el Centro Oceanográfico de Vigo del Instituto Español de Oceanografía (IEO), sobre el cultivo de la merluza europea *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758). Los trabajos publicados los dos últimos años (Ortiz-Delgado et al. 2012, Iglesias et al.2013, Iglesias 2013, Otero et al. 2014, en prensa) constituyen un aporte fundamental para el desarrollo del cultivo de esta especie, de máximo interés comercial en España.

Las características más destacables de este trabajo de investigación se basan en que en una primera fase, se ha establecido el primer stock de reproductores de merluza europea en las instalaciones del IEO de Vigo y conseguido por primera vez en España no solo la reproducción espontánea de merluza a partir de ejemplares salvajes mantenidos en cautividad, y que durante los dos últimos años se ha establecido un protocolo alimenticio para llevar a cabo el cultivo larvario de la especie y se define la adherencia de la gota de grasa en el momento de la eclosión, como el factor determinante de la calidad de las larvas producidas. Adicionalmente la importancia del canibalismo en la supervivencia a partir del segundo mes y el uso de los misidáceos como dieta intermedia entre la Artemia y el pienso seco, constituyen las aportaciones más novedosas en el cultivo de la merluza europea.

La merluza europea *Merluccius merluccius* es una especie muy apreciada en España y en los países de su entorno y presenta además un gran mercado potencial. España es la primera productora pesquera de esta especie en la Unión Europea y supone  $\frac{1}{4}$  del consumo total de pescado fresco en España.

Adicionalmente, las poblaciones naturales existentes en el área Atlántica han disminuido drásticamente desde finales de los años 90, estimándose que el tamaño actual de la población es el 50% de lo que fue en los años 70. Este descenso substancial en las pesquerías dio como resultado un aumento significativo de la importación de otras especies de merluza, principalmente de África y Sudamérica, en el mercado europeo. Dicha situación hace a los países europeos, y en especial a España, cada vez más dependientes de otras naciones, hecho que debería ser contrarrestado de alguna forma.

Una manera de afrontar esta situación podría ser a través del desarrollo de la acuicultura de la especie en Europa, por lo que un análisis exhaustivo de la viabilidad del cultivo de esta especie se hace cada vez más imprescindible.

En los últimos años se han realizado varias experiencias de cultivo hasta el estadio juvenil usando huevos obtenidos de adultos salvajes de merluza europea (Bjelland 2001, Bjelland y Skiftesvik 2006) y a partir de puestas inducidas hormonalmente en el caso de merluza austral *Merluccius australis* (Bustos y Landaeta 2005, Bustos et al. 2007). Otras líneas de investigación relacionadas con la merluza se han detenido en la captura y marcado de juveniles salvajes para estudios de distribución de stocks y crecimiento en el medio natural (Pontual et al. 2003, Piñeiro et al. 2007). En Chile hace aproximadamente una década se había intentado cultivar la merluza (*M. australis*), pero el éxito obtenido fue limitado. Respecto a la merluza europea, investigadores franceses han mantenido en cautividad ejemplares adultos de esta especie con la finalidad de estudiar los efectos del marcado (Jolivet et al. 2009).

En España, Iglesias et al. (2010) describen las condiciones de captura, transporte y aclimatación idóneas para la merluza europea. En el año 2009, en el IEO de Vigo ha tenido lugar el primer caso de reproducción espontánea de merluza europea en España (Sánchez et al. 2011), a partir de ejemplares mantenidos en cautividad capturados durante dos campañas de pesca realizadas en 2007 y 2008. Con las puestas obtenidas se realizó un detallado seguimiento del desarrollo embrionario y se describieron los primeros estadios del desarrollo larvario de la especie (Sánchez et al. 2011, Ortiz-Delgado et al. 2012, Iglesias et al. 2013).

En los dos últimos años se han alcanzado cuotas importantes de conocimiento para el desarrollo larvario semi-industrial. Por un lado se ha determinado que la adherencia de la gota de grasa en las larvas recién eclosionadas constituye un factor determinante a la hora de definir la calidad de las larvas y el éxito del posterior (Iglesias et al. 2013, Iglesias 2013) y por otro se han establecido las pautas iniciales para realizar el cultivo larvario hasta el cambio de alimento vivo a pienso inerte (Otero et al. en prensa).

Las experiencias realizadas hasta la actualidad han sido presentadas en varios congresos en formato de póster y vídeo (Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas, Congreso Nacional de Acuicultura, AquaPerú 2013), y publicadas en revistas científicas (Aquaculture Research, J. Applied Aquaculture), y en numerosas modalidades de divulgación (revistas, radio, prensa, televisión y vídeos en internet). Asimismo han generado acuerdos de colaboración con otros centros de investigación

nacionales (CSIC, CIMA Centro de Investigaciones Mariñas de la Xunta de Galicia, ECIMAT, Universidad de Vigo y Barcelona) e internacionales (Fundación Chile) y con empresas del sector.

### **III.- CAPTURA DE EJEMPLARES, TRANSPORTE Y ACLIMATACIÓN**

#### **Material y métodos**

En el año 2008 se realizó una campaña de pesca de arrastre para establecer la zona de captura más idónea, la metodología de captura, la técnica de punción de la vejiga natatoria y los procesos de acondicionamiento a bordo y transporte a las instalaciones del IEO

Las merluzas fueron capturadas en una campaña realizada en la Ría de Vigo (NW España) en Junio de 2008, usando un arte de pesca experimental (GO-73, modificado, Figura 1) con un copo especialmente diseñado para retener el agua mientras se iza la red (Pontual et al. 2003). Las pescas fueron realizadas a lo largo de 5 días, a 25-35 m de profundidad, con una duración de 13-15 minutos a una velocidad de 1-1.5 nudos. El arrastre fue realizado lentamente ( $75 \text{ m min}^{-1}$ ) para minimizar los problemas asociados con la dilatación de la vejiga natatoria.



**Figura 1.** Arte de pesca adaptado para la captura de la merluza

Las merluzas fueron introducidas en un tanque isoterma de 500 L, equipado con un sistema de bombeo de agua desde una profundidad de 10-15 m para mantener un temperatura semejante a la que se encuentran en su medio natural (14-15°C). Además también se mantuvieron condiciones de oscuridad y oxígeno a saturación. Los ejemplares que flotaban en la superficie con el abdomen distendido fueron pinchados con una aguja 0.8 mm x 40 mm con un ángulo de 45°, en un área equidistante entre el

ano y la aleta dorsal; y se aplicó una ligera presión en el abdomen para extraer el exceso de gas acumulado en la vejiga natatoria. Los peces pinchados y no pinchados fueron separados en tanques isoterms mantenidos a 13-14°C.

## Resultados

Se llevaron a cabo 38 lances, obteniendo una captura total de 1026 ejemplares (Tabla 1), de los cuales un 56.9% murieron debido al proceso de captura. El 78% de los peces mostraron dilatación abdominal, flotando en el tanque, de modo que fue necesario someterlos al proceso de punción de la vejiga natatoria; el restante 22% se desplazó directamente al fondo del tanque y la punción no fue necesaria.

Finalmente 584 peces fueron transportados en los mismos tanques isoterms, en penumbra, a la misma temperatura y oxígeno a saturación. El transporte se realizó en camiones (provistos de grúa), a baja velocidad, y durando no más de 45 min; la tasa de supervivencia en esta fase fue del 88.9% de supervivencia.

Ya en el laboratorio, los ejemplares vivos se introdujeron mediante salabardos tupidos y capachos, siempre sumergidos en agua y minimizando el manejo en lo posible, en los tanques de aclimatación. Estos tanques de 8 m<sup>3</sup> de capacidad y en total oscuridad, contenían agua a 13°C en sistema de circuito abierto, con un flujo de 1500 L h<sup>-1</sup>, y estaban provistos de una lona plastificada negra situada verticalmente a lo largo de sus cuatro paredes del tanque, para evitar que los peces chocaran o se rozaran contra las paredes. Se observó que ocasionalmente los peces saltaban a gran altura y algunas veces caían fuera del tanque, por lo que se instaló una malla plástica en la parte superior elevada 50 cm por encima del nivel del agua y se ajustó el nivel del agua por lo menos 1 m por debajo de la parte superior del tanque. Una vez en las instalaciones del Centro Oceanográfico de Vigo, los ejemplares muertos durante el traslado desde el barco fueron retirados y muestreados en talla y peso y la supervivencia fue estimada separadamente para cada uno de los procesos de captura, transporte y aclimatación.

Al cabo de 4 días (periodo crítico) sobrevivieron 210 ejemplares, esto es, un 40.5% de los estabulados inicialmente, de los cuales a los tres meses, sobrevivieron 142 (67.6% de los que superaron el periodo crítico; Tabla 2). La mortalidad observada en los peces durante estos primeros días puede ser explicada por el efecto traumático ejercido sobre órganos y vasos sanguíneos por una dilatación excesiva de la vejiga natatoria (Keniry et al. 1996).

Se determinó también la distribución de frecuencia de tallas de los peces muertos capturados durante la pesca, que equivale a una estimación de la talla de la población. Las tallas oscilaron en un rango de 20 a 46.5 cm, con un valor medio de  $32.6 \pm 4.1$  cm. El 80.5% de los ejemplares están en el intervalo de 28 a 38 cm.

**Tabla 1.** Resumen de capturas de la campaña 2008

Fecha	Nº de lances	Total capturados	Nº de muertas	Nº de vivas
31/05/2008	6	134	97	37
01/06/2008	4	86	40	46
02/06/2008	7	153	55	98
03/06/2008	6	165	72	93
04/06/2008	6	172	53	118
06/06/2008	6	190	84	107
07/06/2008	3	126	41	85
TOTAL	38	1026	442	584

**Tabla 2.** Resumen de supervivencias en el IEO

Fase del proceso	Nº total	Porcentaje (%)
Captura	584	56.9
Traslado	519	88.9
Cuatro días (periodo crítico)	210	40.5
Tres meses	142	67.6

## Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman que es posible constituir un stock de reproductores de merluza europea a partir de ejemplares capturados por arrastre en las rías gallegas, y que se pueden mantener en cautividad por un periodo prolongado. Se ha confirmado también la eficacia de un arte de arrastre modificado para la obtención de individuos vivos y se ha comprobado la eficiencia del método de punción abdominal de la vejiga natatoria. El uso de agua fría (14-15°C) y de tanques isotermos, donde se minimizó al máximo el manejo de los peces, he demostrado ser un método de recuperación y transporte muy adecuado.

El éxito en la captura de ejemplares vivos, fue debido por un lado al arte de pesca empleado que ha permitido mantener siempre los peces en agua, lo que evitó su asfixia

y alivió la compresión y rozamiento de los peces entre si, y por otro lado a la maniobra de pesca con arrastres de poca duración y a muy baja velocidad, y con maniobras de virado también muy lentas, lo que minimizó el efecto de la despresurización. No obstante, en este experimento la pesca fue la causa más importante de la mortalidad, muy variable en los diferentes lances dependiendo sobre todo de la especie, la abundancia y el tamaño del by-catch, con incidencia sobre todo de el jurel (*Trachurus trachurus*, Linnaeus 1758), la faneca (*Trisopterus luscus*, Linnaeus 1758) y el pancho bicudo (*Pagellus acarne* (Risso, 1827)).

Otro aspecto muy importante fue la rapidez y precisión en la realización de la punción abdominal de los ejemplares para eliminar de la vejiga natatoria el aire excesivo acumulado durante la despresurización. Esta operación es indispensable y ha de hacerse con rapidez, ya que aunque a medio plazo el gas se acaba eliminando de forma natural, los peces se acaban muriendo por efecto de la compresión prolongada sobre los órganos adyacentes.

Otro factor que indudablemente ha contribuido a la mejora en la supervivencia, ha el estricto control de los parámetros medioambientales (luz y temperatura) durante el mantenimiento de los ejemplares capturados, tanto abordo como durante el traslado hasta el laboratorio. También ha contribuido al éxito la poca profundidad a la que se realizaron las pescas minimizando el efecto de la despresurización, y la proximidad de la zona de pesca a las instalaciones que disminuyó el tiempo de traslado.

Respecto al mantenimiento en el laboratorio, la introducción en el tanque de paredes internas flexibles, ha evitado los roces contra las paredes del tanque y los daños en la mandíbula. Esta especie ha mostrado ser excesivamente sensible a la manipulación, y a la luz, por lo que las labores de limpieza y retirada de alimento no consumido, es aconsejable hacerlas con luz roja que es mejor tolerada como ya se ha observado en otras especies, pero manteniendo la luz suficiente para establecer ritmos noche-día. Esporádicamente, las merluzas saltan fuera del agua alcanzando más de un metro sobre la superficie, por lo que es aconsejable situar el nivel del agua en los tanques un metro por debajo de la parte superior del tanque. También es de obligado control la temperatura que se debe mantener entre 14 y los 15°C y la presión total de los gases disueltos a los que son muy sensibles.

#### **IV.-ALIMENTACIÓN EN CAUTIVIDAD**

##### **Material y métodos**

Después de haber superado las fases de captura y acondicionamiento a los tanques de cultivo, el reto de mayor importancia a conseguir fue superar la fase de alimentación en cautividad.

La merluza es un activo predador de peces vivos. Análisis de contenidos estomacales procedentes de ejemplares salvajes realizados por Velasco y Olaso (1998) dan como resultado una composición en la que predominan los clupeidos, la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*, Risso) y el jurel (*Trachurus trachurus*, Linnaeus). Observaciones directas de las merluzas procedentes de la campaña de pesca del año 2008 citada en este trabajo, mostraron que el 85% de los contenidos estomacales eran sardina y que el 15% restante eran cefalópodos y otros peces, por lo que la sardina (*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)) era la dieta predominante.

En consecuencia y teniendo en cuenta que las merluzas no aceptaban inicialmente el pescado muerto, como primera alimentación se decidió utilizar pescado vivo. Debido a la dificultad que supone la captura y acondicionamiento de la sardina, fue necesario optar por una especie diferente, pero que fuese por un lado, muy abundante en las rías y por otra parte, que fuese a su vez bien aceptada por la merluza.

Contactando con los marineros del puerto de Baiona, decidimos que la única especie que se captura en abundancia en las rías y que, a su vez, es utilizada por los marineros para pescar con cebo vivo otras especies comerciales como la lubina (*Dicentrarchus labrax*, (Linnaeus, 1758)) era el lanzón o bolo (especies *Ammodytes tobianus*, L. y *Hyperoplus lanceolatus*, Le Sauvage). Estas especies forman parte importante, a su vez, de la dieta natural de otras especies comerciales de las rías, tales como la lubina y el rodaballo (*Psetta maxima*, L.). En consecuencia, las merluzas fueron alimentadas durante las primeras cuatro primeros meses con bolo o lanzón (Figura 2). El bolo es una especie abundante y barata, que se puede mantener alimentándola con pienso, durante periodos relativamente largos en cautividad. El alimento vivo fue suministrado a saciedad tres días por semana.

##### **Resultados**

Desde los primeros días los bolos fueron atacados de forma muy activa (Figura 3), llegando a consumir al cabo de dos meses de aclimatación más de 100 ejemplares

vivos diarios por tanque de 8 m<sup>3</sup>. Este consumo equivale a un peso ingerido de 2 kg de pescado vivo por día.

Al cabo de cuatro meses se inició el paso de alimentación viva a inerte. Se utilizó fundamentalmente pescado congelado, aunque se realizaron pruebas adicionales de suministro complementario de calamar (*Loligo vulgaris*, Lamarck 1758) y mejillón (*Mytilus edulis*, Cuvier, 1829). La comida fue suministrada a saciedad tres días por semana y los restos no ingeridos retirados cada dos días. Aunque la dieta inerte no fue fácilmente aceptada y tuvo que ser suministrada inicialmente como complemento a la dieta viva, al cabo de un mes todas las merluzas se alimentaban tres días por semana de sardina congelada (Figura 4), con una alternancia de un día por semana de pescado blanco (bolo, bogón o piobardo, *Atherina presbyter*, y bacaladilla, *M. poutassou*).

Con respecto al pescado congelado, la merluza se ha mostrado bastante exigente en cuanto a la calidad, sobre todo en el pescado congelado, aceptando solamente bolo y sardinas ambas especies congeladas muy frescas en las instalaciones del laboratorio. Como era de esperar, la tasa de alimentación se redujo substancialmente, hasta alcanzar una media de 15-30 ejemplares por ración diaria, lo que equivale a un peso ingerido de 300 a 600 g día<sup>-1</sup>. Esta disminución en la alimentación con el paso de alimentación viva a inerte, se verá manifestada posteriormente en las tasas de crecimiento.

Finalmente, a los dos meses del inicio del suministro de pescado congelado se paso a la última fase de alimentación en cautividad: la utilización de un pienso húmedo elaborado en las instalaciones del IEO. Este pienso se elaboró en base a la siguiente composición:

- Pescado blanco: 27%
- Pescado azul: 27%
- Calamar: 13%
- Harina/Premix: 33%

Toda la mezcla fue mezclada y triturada y finalmente presentada como un pellet de 3-6 cm de largo y diámetro de 1 cm (Figura 5). El proceso de aceptación al pienso húmedo fue semejante al del pescado congelado y las tasas de ingestión diarias también similares. El comportamiento habitual de las merluzas en los tanque de cultivo ante un pienso inerte consistió en reposar sin moverse, la mayoría del tiempo sobre el fondo, desplazándose activamente para la captura del alimento cuando este es administrado. La captura del alimento se produce cuando éste se desplaza hacia abajo a lo largo de

la columna de agua, aunque esporádicamente también pueden capturar alimento ya depositado sobre el fondo.



**Figura 2.** Bolo vivo



**Figura 3.** Alimentación con bolo vivo



**Figura 4.** Alimentación con sardina congelada



**Figura 5.** Alimentación con pienso húmedo

## Discusión

Previamente a nuestra campaña de pesca realizada en el año 2007, no existían citas previas en el mundo que afirmasen haber podido alimentar a la merluza europea en cautividad. En España se habían realizado diversos intentos tanto por empresas privadas, como la antigua Insuiña o el Cluster de Acuicultura, como en Acuarios como el Aquarium Finisterrae en A Coruña y el Aquarium Galicia en O Grove. En ningún caso se pudo constatar que comiesen pescado vivo y mucho menos congelado o pienso inerte. El haber conseguido este primer paso en cautividad en el IEO de Vigo significa un gran avance cara a su posible aplicación industrial.

El suministro durante los primeros cuatro meses de una dieta basada en pescado vivo, constituida por el bolo o lanzón (*Ammodytes tobianus* L. y *Hyperoplus lanceolatus* Le Sauvage), y posteriormente una dieta en base a pescado muerto fresco y congelado, (principalmente sardina y bolo), ha permitido una perfecta adaptación de las merluzas

capturadas a las condiciones de cautividad. Finalmente, el haber conseguido un pienso húmedo elaborado en el IEO, que fue fácilmente aceptado por el stock estabulado de merluza ha constituido un éxito sin precedentes.

## **V.-OBTENCIÓN DE PUESTAS VIABLES: CARACTERÍSTICAS DE LOS HUEVOS DE LA MERLUZA EUROPEA**

### **Material y métodos**

En el mes de abril de 2009 se registró por primera vez en España una puesta espontánea de merluza europea, obtenida de un stock de reproductores mantenidos en cautividad en las instalaciones del IEO durante dos años. En este apartado se describe la evolución diaria de las características biométricas y morfológicas de los diferentes estadios del desarrollo embrionario de la merluza desde la fecundación hasta la eclosión, proceso que duró 4 días a la temperatura de 14°C.

La fecundación se produjo de forma espontánea en el propio tanque de reproductores. Los huevos fueron recogidos en un salabre de 500 µm situado superficialmente a la salida del tanque. Posteriormente, los huevos flotantes se trasladaban a un incubador cilindro-cónico de 150 L, con circuito de agua a 14°C y desagüe central cilíndrico con malla de 500 µm.

### **Resultados**

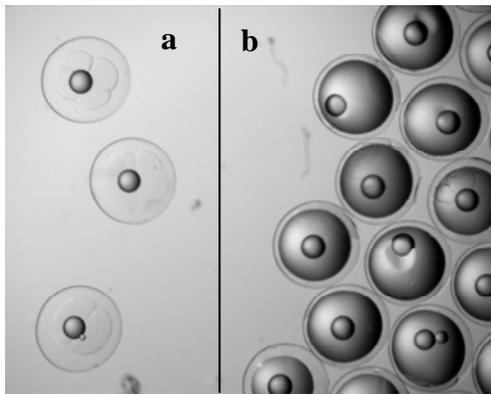
Los huevos de la merluza europea son hidrófugos, por lo que tienen tendencia a flotar, exponiendo gran parte de su superficie fuera del agua, llegando incluso a deshidratarse. Con el fin de evitar esta circunstancia, se ha provisto a los tanques de incubación de una entrada de agua de 2.5 L min<sup>-1</sup>, a través de un tubo horizontal de pvc de 4 cm de diámetro, provisto de orificios de 1 mm por donde sale el agua (Figura 6), provocando que los huevos se distribuyan en la columna de agua, exhibiendo un suave movimiento de rotación alrededor del cilindro central.



**Figura 6.** Incubador de huevos para merluza europea

Los huevos de la merluza europea son transparentes, esféricos y tienen un diámetro de 1.07 mm. El vitelo ocupa la mayor parte de su volumen, por lo que el espacio perivitelino es muy reducido. Poseen una única gota de grasa de 0.24 mm.

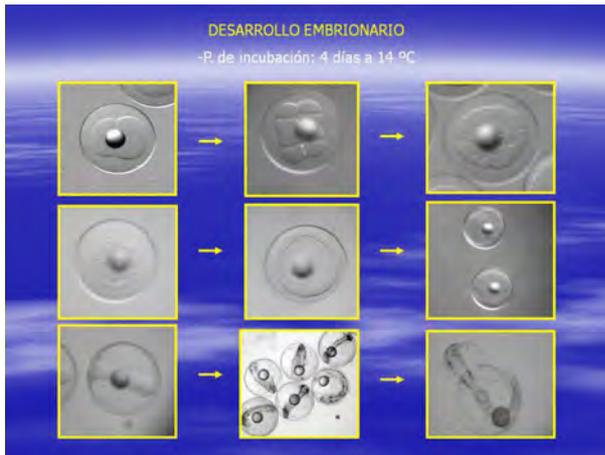
Los huevos presentan una característica muy importante a la hora de analizar su posible viabilidad. Son hidrófugos, por lo que tienen tendencia a flotar exponiendo gran parte de su superficie fuera del agua, llegando incluso a deshidratarse. En la figura 7 se muestran huevos transparentes normales (a) y huevos flotantes deshidratados de merluza (b) que se distribuyen en toda la columna de agua del tanque de incubación.



**Figura 7.** Huevos hidrófugos deshidratados (derecha, b) y huevos transparentes hidratados normales (izquierda, a) de merluza europea

Para evitar la mortalidad de los huevos fecundados que esporádicamente aparecen ya hidratados en superficie, el sistema de incubación con entrada de agua superficial, por medio de un tubo de PVC perforado descrito previamente, funcionó con éxito en todos los casos, haciendo que los huevos se distribuyan en toda la columna de agua.

Tras la fecundación el espacio perivitelino es muy reducido, ocupando el vitelo la mayor parte del huevo. En un periodo de tiempo de aproximadamente a los 90 minutos después de la fecundación y a 14°C se producen las primeras divisiones mitóticas del vitelo, pasando de 2 a 4, 8, 16 y 32 divisiones celulares (Figura 8). La mórula se forma a las 4 horas de la fecundación y se mantiene en esta fase hasta las 8 horas.



**Figura 8.** Estadios de desarrollo embrionario de la merluza europea

A las **20 horas** después de la fecundación se forma la blástula, colocándose los blastómeros en el polo animal y posteriormente se produce la gástrula a las 25 horas tras la fecundación.

A las **36 horas** ya se observa ya la formación del embrión. La cabeza esta diferenciada y los somitos se hacen evidentes. Cabeza formada y notocorda diferenciada.

A las **48 horas** el embrión realiza una diferenciación de la cola y ocupa las  $\frac{3}{4}$  partes de la longitud de su circunferencia, observándose un aumento del número de cromatóforos en las zonas de la cabeza y la cola.

A las **60 horas** la cola ocupa más de la longitud total de la circunferencia, es lo que se denomina estado de “cola larga”, previo al momento de la eclosión.

A las **62 horas** y a la temperatura de 14°C las contracciones musculares se hacen más evidentes y vigorosas, favoreciendo la eclosión, que se inicia a los 2.5 días de la fecundación y finaliza a los tres días (72 h después de la fertilización).

## Discusión

Las puestas de merluza obtenidas en el IEO de Vigo constituyen la primera cita en España de huevos fecundados de merluza europea conseguidos a partir de un stock de reproductores sometido a dos años de cautividad. Este hecho ha permitido obtener un número de huevos fertilizados que, aunque reducido, ha sido suficiente para realizar un exhaustivo seguimiento de las características morfológicas y biométricas del huevo durante todo el proceso del desarrollo embrionario. Estas características son también fundamentales para la identificación de la especie en campañas de Ictioplancton.

## **VI.-CONSUMO DEL SACO VITELINO: CARACTERÍSTICAS DE LAS LARVAS RECIÉN ECLOSIONADAS**

### **Material y métodos**

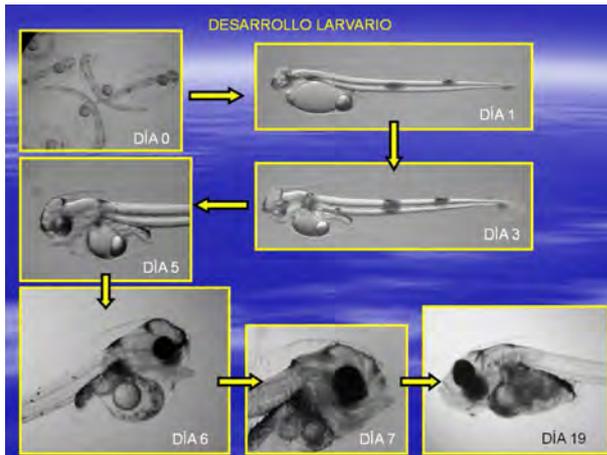
La larva recién nacida de la merluza europea nada pasivamente en la columna de agua, mostrando esporádicamente movimientos bruscos de desplazamiento. Posee como característica distintiva tres bandas verticales pigmentadas en la zona post-anal (Figura 9). La parte dorsal de la cabeza y zonas de la gota de grasa se encuentran también ligeramente pigmentadas por cromatóforos. La boca está todavía cerrada y el ojo no está pigmentado. La longitud de la larva en la eclosión es de 3.20 mm y la longitud estándar 3.05 mm. El peso seco individual es de 0.06 mg y el diámetro de la gota de grasa es de 0.24 mm.

Una característica muy importante de las larvas de merluza es que en el momento de la eclosión (día 0 de vida) deben presentar la gota de grasa bien adherida a la parte posterior del saco vitelino, de lo contrario, en caso de presentar una gota de grasa no adherida, con movimientos libres a lo largo de todo el saco vitelino, la viabilidad posterior de las mismas es muy reducida (Bustos et al. 2007 b, Iglesias et al. 2013).

### **Resultados**

A los **5 días** después de la eclosión las larvas de merluza incubadas a 14°C abren la boca pero todavía no ingieren alimento. Se consume casi por completo el saco vitelino (0.44 mm) manteniéndose todavía parte de la gota de grasa. Los ojos se oscurecen por completo. La pigmentación es más fuerte en los cromatóforos de la parte dorsal de la cabeza y sistema digestivo, extendiéndose puntualmente a lo largo de la notocorda.

A los **seis días** tras la eclosión, las larvas de merluza cultivadas a 14°C abren la boca y a los 7 días comienzan a alimentarse de forma exógena, diferenciándose claramente las mandíbulas superior e inferior. Se produce la reabsorción de la gota de grasa. Longitud total de la larva 4.15 mm. A los **siete días** después de la eclosión, las larvas ya poseen un tubo digestivo funcional y se alimentan activamente de los rotíferos suministrados. Su natación se hace mucho más consistente y atacan a las presas con movimientos rápidos y precisos, debido a que en esta fase las aletas pectorales están ya bien diferenciadas.



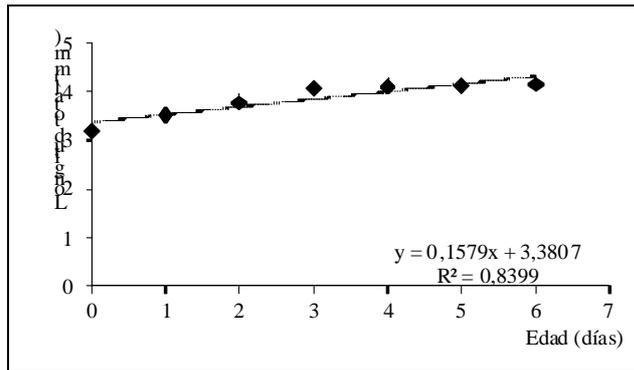
**Figura 9.** Desarrollo larvario de merluza europea hasta el consumo del saco vitelino

Las características biométricas de las larvas de merluza durante el periodo de consumo del saco vitelino, se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Longitudes y peso seco (mm y mg) de las larvas de *M. merluccius* desde la eclosión hasta el consume del saco vitelino (seis días después de la eclosión) a 14°C.

EDAD (días)	LONGITUD TOTAL(mm)	LONGITUD STAND.(mm)	PESO SECO (mg)	DIAMETRO GOTA GRASA (mm)	LONGITUD VITELO (LARGO)(mm)	LONGITUD VITELO (ANCHO)(mm)	DIAMETRO OJO (mm)
0	3.20	3.05	0.06400	0.212	1.05	0.632	0.173
1	3.52	3.39	0.07416	0.24	1.03	0.57	0.20
2	3.78	3.63	0.08217	0.24	0.79	0.56	0,20
3	4.08	3.93	0.10312	0.23	0.60	0.50	0.20
4	4.11	3.98	0.10409	0.21	0.54	0.49	0.20
5	4.14	4.01	0.10601	0.23	0.44	0.41	0.20
6	4.15	4.00	0.10742	0.24	0.33	0.32	0.20

La tasa de crecimiento diario desde la eclosión hasta el consumo del saco vitelino es de 0.20 mm día<sup>-1</sup>, existiendo una relación directa en entre la longitud total de las larvas y la edad en días (Figura 10). La ecuación de crecimiento se ajusta a una relación lineal del tipo:  $y = 0.1579x + 3.3807$ ;  $R^2 = 0.8399$ , donde y es la longitud total (LT) y x la edad en días.



**Figura 10.** Crecimiento larvario hasta el consumo del saco vitelino

## Discusión

Se han descrito por primera vez la evolución diaria de las características de las larvas de merluza europea, desde la eclosión hasta el consumo del saco vitelino. Estas descripciones podrán servir para la identificación y la determinación de la edad en días de las muestras de larvas de merluza capturadas en campañas de Ictioplancton por los equipos de pesquerías, ya que actualmente no se dispone de una serie continuada de estas características.

La eclosión tiene lugar a los 4 días de incubación de los huevos a 14°C y el consumo del saco vitelino a los 6 días de vida, cuando se inicia la alimentación exógena (Sánchez et al. 2011). Estos datos se ajustan mucho a los aportados por Bjelland y Skiftesvik (2006) para la misma especie en Noruega. Sin embargo, Bustos y Landaeta (2005) indican que son necesarios 9 días para completar la absorción del saco vitelino de la merluza austral (*Merluccius australis*, Hutton, 1872) en Chile, lo cual es lógico si consideramos que esas experiencias fueron desarrolladas a temperaturas más bajas.

Los parámetros biométricos muestran un incremento gradual en talla desde la edad 0 (3.20 mm) hasta el consumo del saco vitelino (4.15 mm), con la excepción de la longitud y la altura del saco vitelino, que se reduce gradualmente desde el inicio hasta el final del proceso. Los diámetros de ojo y gota de grasa no varían substancialmente a lo largo de todo el proceso. El peso seco varía de 0.06 mg en la eclosión a 0.11 mg al consumo del saco vitelino.

## **VII.-ADHERENCIA DE LA GOTA DE GRASA. CONTROL DE CALIDAD LARVARIA**

### **Material y métodos**

El efecto de la adherencia de la gota de grasa sobre la supervivencia y el crecimiento fue estudiado en todas las puestas obtenidas en el IEO a lo largo de los últimos años. En un primer grupo de experiencias se analizó este parámetro en larvas sometidas a inanición y posteriormente también fue estudiado en larvas alimentadas con rotífero y *Artemia* hasta los 20 días de edad.

En ambos casos se determinó la mortalidad diaria de las larvas con gota de grasa bien y mal adherida al vitelo y se controló el crecimiento de ambos grupos determinando la longitud total y el peso seco de las larvas cada cinco días de cultivo.

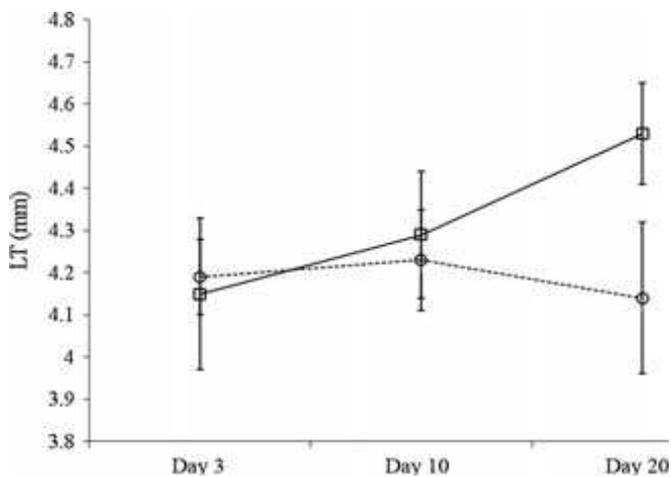
## **Resultados**

La experiencia de más de 150 cultivos larvarios de merluza europea realizados en los últimos 5 años, nos hace concluir que la adherencia de la gota de grasa al saco vitelino puede ser un factor determinante a la hora de conseguir unos valores posteriores adecuados de supervivencia y crecimiento larvario. En el momento de la eclosión, es posible distinguir dos tipos de larvas en la merluza europea: aquellas que poseen una gota de grasa amarillo-brillante adherida a la parte posterior del saco vitelino, que muestra cromatóforos y vasos sanguíneos en su superficie y otro tipo de larvas que poseen una gota de grasa transparente-brillante y sin cromatóforos, que no se encuentra adherida al vitelo y se mueve libremente en su interior (Figura 11).

También es importante tener en cuenta que durante el consumo del saco vitelino las larvas con gota de grasa adherida muestran un número creciente de cromatóforos, su color cambia a marrón oscuro y el diámetro disminuye de 0.27 mm en la eclosión hasta los 0.08 a día 7 de vida. Sin embargo, en las larvas con gota no adherida el color de la gota se mantiene transparente, sin vasos y no se reabsorbe, por lo que mantiene el mismo diámetro inicial. Esta importante diferenciación morfológica lleva consigo también un efecto sobre la supervivencia y el crecimiento de estos dos grupos de larvas: Más del 90% de las larvas que poseen la gota de grasa no adherida mueren antes del día 11 de vida; y las escasas supervivientes alcanzan un peso final mucho menor significativamente que las que poseen la gota bien adherida al vitelo (Figura 12).



**Figura 11.** Diferencia entre larvas con gota de grasa pigmentada y adherida a la parte posterior del vitelo y larvas con gota de grasa transparente y no adherida al vitelo



**Figura 12.** Crecimiento en longitud de las larvas de merluza europea con gota de grasa adherida (cuadrados) y no adherida (círculos), alimentadas durante 20 días con rotíferos y nauplios de Artemia

## Discusión

La falta de adherencia de la gota de grasa y la no absorción de la misma durante el proceso de consumo del saco vitelino se da también en otras especies de peces como la lubina, la dorada y la merluza austral (Deplano et al. 1991, Díaz et al. 2002, Bustos et al. 2007) pero no existen citas previas en el caso de larvas silvestres de *Merluccius merluccius*.

¿Pero cuáles son las causas que producen una gota de grasa no adherida? Algunos autores (Poupard et al. 2000, Bustos et al. 2007) afirman que es debido a un fallo durante la formación de la capa sincitial que encapsula las gota de grasa durante la

embriogénesis. Esta membrana es la responsable de la síntesis de lipoproteínas (Díaz et al. 2002), en consecuencia en las larvas con gota no adherida los lípidos que posee la gota no pueden pasar al interior del tejido de la larva. De hecho, recientemente hemos observado esta característica de no adherencia de la gota de grasa incluso en los embriones de la merluza antes de realizarse la eclosión del huevo. Deplano et al. (1991) señalan que el proceso de la no absorción de la gota de grasa puede ser también producido por el estrés o por las condiciones de alimentación de los reproductores. Finalmente Poupard et al. (2000) señalan que existe un gen específico que correlaciona la absorción de los lípidos endógenos con la síntesis de la membrana sincitial citada anteriormente.

El hecho de que después de 11 días de vida casi el 100% de las larvas de la merluza europea mueran, coincide con lo observado por Bustos et al. (2007) en la merluza austral en Chile, donde la mayoría de larvas con gota no adherida mueren poco después del consumo del saco vitelino. Sin embargo, en nuestro caso con la merluza europea algunas larvas con gota no adherida alimentadas con rotíferos y *Artemia* pueden vivir hasta los 15-20 días después de la eclosión, pero en cualquier caso muestran un crecimiento y una supervivencia más baja.

En consecuencia, este factor puede ser determinante a la hora de definir “la calidad” de las larvas al iniciar un cultivo larvario: Un mayor porcentaje de larvas con gota de grasa adherida al saco vitelino, implicará una mejor supervivencia posterior del cultivo larvario.

### **VIII.-CULTIVO LARVARIO. PRIMERA ALIMENTACIÓN VIVA**

Adicionalmente a las características morfológicas y biométricas descritas de la merluza europea, a partir del año 2010 se han realizado múltiples experiencias de cultivo larvario de la merluza en España y puede considerarse como el punto de partida de una nueva fase de investigación, de máximo interés para su transferencia tecnológica: el cultivo larvario.

Para iniciar el cultivo larvario de una especie es necesario determinar el tamaño óptimo de la presa suministrada. Este tamaño depende del tamaño de apertura de la boca de la larva, así como de su comportamiento predador. Algunas especies, como el rodaballo (*Psetta maxima*) o la lubina (*Dicentrarchus labrax*) consumen presas de tamaño pequeño (150  $\mu$ m) y se alimentan comúnmente con el rotífero *Brachionus*

*plicatilis*. Sin embargo, otras especies que poseen una apertura de boca mayor, como el lenguado común (*Solea solea*) o el salmón (*Salmo salar*) se alimentan con una presa de mayor tamaño (>400  $\mu\text{m}$ ), como los nauplios de artemia o dietas artificiales (Appelbaum 1985, Bremigan y Stein 1994). El objetivo inicial consistió en conocer al inicio de la alimentación exógena, cuando las larvas ya han consumido su saco vitelino, cual es el tipo y tamaño de presa más adecuado para iniciar el cultivo larvario de la merluza, utilizando para ello rotífero y nauplios de artemia.

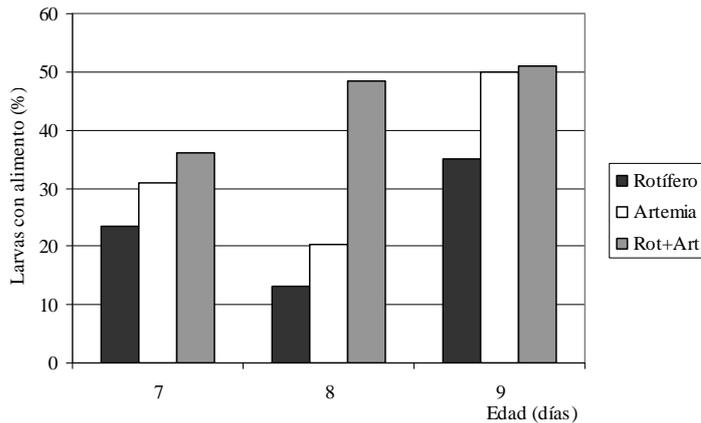
## Material y Métodos

Las larvas utilizadas proceden de una puesta espontánea obtenida en el IEO. Los huevos fueron recogidos en un colector de 500  $\mu\text{m}$  y se incubaron en un tanque de 120 L a temperatura de  $14\pm 0.5^\circ\text{C}$  y salinidad de 35 psu. A los 4 días se produjo la eclosión y las larvas se mantuvieron en el mismo tanque hasta el consumo del saco vitelino, que tiene lugar 6-7 días después de la eclosión.

Con el fin de averiguar el tipo de presa seleccionado por las larvas de merluza al inicio de la alimentación exógena, se diseñaron tres experimentos con larvas mantenidas en inanición de 7, 8 y 9 días de vida. En cada uno se utilizaron 9 vasos de 1.5 L, con 45 larvas (densidad 30 larvas  $\text{L}^{-1}$ ). A tres de ellos se les añadió como presa rotífero *Brachionus plicatilis* (3 rot  $\text{mL}^{-1}$ ); a otros tres nauplios de *Artemia franciscana* (3 art  $\text{mL}^{-1}$ ) y a los tres restantes una mezcla de rotífero (1.5 ind  $\text{mL}^{-1}$ ) y artemia (1.5 ind  $\text{mL}^{-1}$ ). La temperatura y la salinidad fueron las mismas que durante la incubación. A las tres horas del comienzo de los experimentos se examinó el contenido estomacal de 20 larvas de cada vaso, determinando la cantidad y el tipo de presa ingerida.

## Resultados

Se ha comprobado que las larvas de merluza cultivadas a  $14^\circ\text{C}$  comienzan a alimentarse el día 7 de vida. En los tres experimentos (a los 7, 8 y 9 días después de la eclosión), las larvas de merluza seleccionan preferentemente a la artemia frente al rotífero (31 vs 23%; 20 vs 13% y 50 vs 35%, respectivamente). Utilizando la mezcla de ambas presas (rotífero+artemia) el número de larvas que aparecen con presas ingeridas se incrementa en todos los casos (34%, 48% y 51% a los 7, 8 y 9 días después de la eclosión, respectivamente) (Figura 13).



**Figura 13.** Primera alimentación de larvas de merluza utilizando rotífero, artemia y mezcla de ambas presas (Rot+Art) a los 7, 8 y 9 días tras la eclosión

### Discusión

Estos resultados indican que para iniciar la alimentación exógena en el cultivo larvario de la merluza europea, a días 7 y 8 de vida se recomienda suministrar mezcla de rotífero y artemia, pero a día 9 ya se puede suministrar solamente artemia. Bjelland y Skiftesvick (2006) utilizan como primera alimentación de merluza europea una mezcla de rotífero y nauplius de copépodos; Bustos y Landaeta (2005) y Bustos et al. (2007) trabajando con larvas de merluza austral suministran rotíferos y microalgas. Estos autores también utilizan nauplios de artemia a partir del día 10 pero en ningún caso como primera alimentación. En este trabajo se aportan los primeros resultados comparando el uso de diferentes presas como primera alimentación y se concluye que para facilitar el proceso de cultivo larvario y con la misma rentabilidad, se puede iniciar la fase de alimentación viva ya directamente con nauplius de Artemia.

## **IX.- CULTIVO LARVARIO SEMIINTENSIVO. CRECIMIENTO HASTA LOS 250 DÍAS DE VIDA**

### **Material y métodos**

Tratando de realizar el cultivo larvario a una escala semi-industrial, la siguiente etapa consistió en llevar a cabo un cultivo larvario en tanques circulares de 500 L de capacidad. Para ello, se sembraron 16000 larvas por tanque a una densidad inicial de 32 larvas L<sup>-1</sup>. El tanque utilizado tenía las paredes y el fondo negro y poseía un desagüe central, compuesto por un cilindro vertical de PVC provisto de una malla de 500 µm y una suave aireación. El flujo de agua fue de 2 L min<sup>-1</sup>, la temperatura de

14.5±0.5°C, y la salinidad 34.0±1.1 psu. Durante todo el proceso de cultivo larvario se aplicó un fotoperiodo de 12L:12O, con una intensidad en superficie de 600 lux.

Como primera alimentación viva se suministró a partir del día 6 de vida, rotífero *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) a una densidad de 2 ind mL<sup>-1</sup> y *Artemia franciscana* (Kellog, 1906, Salt lake city from Inve Aq. INC) a la densidad de 0.2 ind mL<sup>-1</sup>, siguiendo las recomendaciones de Iglesias et al. (2011). A partir del día 20 solamente se suministró Artemia (0.4-1.0 ind mL<sup>-1</sup>) como presa viva. Nauplius de artemia de un tamaño 0.5-1.0 mm fueron utilizados hasta el primer mes de vida y metanauplios de 1.5-2.0 mm posteriormente. Durante la primera semana se utilizó el sistema de “agua verde”, manteniendo una concentración de 150000 células mL<sup>-1</sup> de *Isochrysis galbana* (Parke, 1949) and 500000 células mL<sup>-1</sup> de *Nannochloropsis oculata* (Hibbord, 1981), con el fin de producir una adecuada turbidez en los tanques de cultivo y las mejores condiciones nutricionales para las presas. A partir del día 8 después de la eclosión se abrió parcialmente el circuito de agua (4 h día<sup>-1</sup>) hasta el final del experimento. Dieta inerte particulada (pellets de 0.8 mm Gemma de Skretting) fue suministrada como complemento de la Artemia a partir del día 55. El periodo de co-alimentación con ambas dietas duró 8 días, durante los cuales la concentración de artemia fue disminuyendo gradualmente, hasta ser eliminada por completo.

Durante el primer mes de vida las larvas de merluza fueron medidas individualmente (longitud total, LT en mm y peso seco en mg) una vez a la semana, utilizando 15 individuos por muestra, y a partir de ahí, cada 10 días hasta el final del segundo mes de vida. El peso seco de 15 larvas se determinó individualmente, manteniéndolas en un horno a 90°C durante 24 h. En las fases post-larvarias, LT (mm) y peso húmedo (g) fue determinado y la supervivencia estimada por volumetría (número de larvas en 10 vasos de 5 L) a los 60, 105 and 250 días.

La tasa de crecimiento específico (SGR, % día<sup>-1</sup>) fue calculada de acuerdo con la fórmula:

$$SGR = 100 * (\ln W_n - \ln W_{n-1}) / (t_n - t_{n-1})$$

donde W<sub>n</sub> es el peso seco (mg) al día n, W<sub>n-1</sub> es el peso seco (mg) al día n-1 y t<sub>n</sub> y t<sub>n-1</sub> son los días de cultivo en los momentos n and n-1, respectivamente.

Las ecuaciones de crecimiento en longitud y peso seco para los dos primeros meses de vida de la merluza fueron calculadas como:

$$LT = a.e^{b.d}, \text{ donde } LT \text{ es } l \text{ longitud total (mm) y } d \text{ es la edad de las larvas (días)}$$

$$DW = a.e^{b.d}, \text{ donde } DW \text{ es el peso seco (mg) y } d \text{ es la edad de las larvas (días)}$$

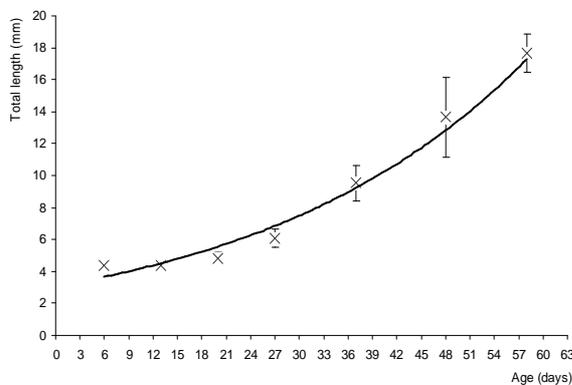
Finalmente la relación Talla/Peso de las larvas de merluza europea, para los primeros dos meses de vida, se calculó utilizando la fórmula:

$W = a.LT^b$ , donde W es el peso seco en mg y LT la longitud total en mm.

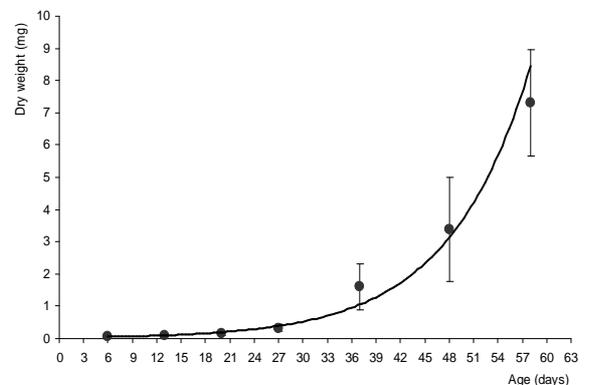
## Resultados

Como ya habían descrito Iglesias et al. (2013) en el momento de la eclosión fue posible diferenciar dos tipos de larvas: unas con la gota de grasa bien adherida a la parte posterior del vitelo, y otras con la gota moviéndose libremente en el interior del vitelo. Al principio de este experimento el primer grupo de larvas representaba solamente el 20% del total de larvas recién nacidas, lo cual, tal como se discutirá más adelante, tendrá una influencia substancial en la supervivencia final alcanzada.

La eclosión tuvo lugar después de cuatro días de incubación a 14°C y el consume del saco vitelino se llevó a cabo después de otros 6 días, cuando comienza la alimentación exógena. La longitud total y el peso seco de las larvas tras la eclosión fueron  $3.28 \pm 0.11$  mm and  $0.059 \pm 0.003$  mg, respectivamente. Un mes después de la eclosión las larvas alcanzaron una LT de  $6.08 \pm 0.56$  mm y a los 58 días  $17.66 \pm 1.22$  mm y  $7.30 \pm 1.65$  mg de longitud y peso, respectivamente (Figuras 14 y 15).



**Figura 14.** Curva de crecimiento en longitud total (mm) de las larvas de la merluza europea durante los dos primeros meses de vida



**Figura 15.** Curva de crecimiento en peso seco (mg) de las larvas cultivadas de la merluza, durante los dos primeros meses de vida

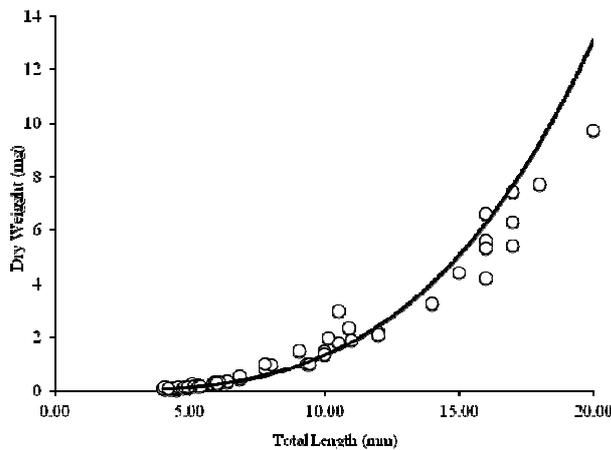
Las ecuaciones de crecimiento para los dos primeros meses de vida de las larvas de la merluza europea fueron:

$$LT = 2.9998 e^{0.0292.d}, r^2 = 0.96$$

$$DW = 0.0244 e^{0.0982.d}, r^2 = 0.98$$

Durante el primer mes de alimentación viva la tasa de crecimiento específico (SGR) varió en el rango de 5.89% (las primeras dos semanas) hasta un máximo de 16.15% a los 37 días después de la eclosión. Sin embargo, después del destete, cuando la alimentación fue gradualmente reemplazada por partículas inertes (pellets), la SGR se redujo substancialmente hasta el 7.65% a la edad de 58 días.

La Figura 16 muestra la relación Talla/Peso para los dos primeros meses de vida de las larvas de la merluza europea. La ecuación que define dicha relación es:  $W = 0.0006.TL^{3.3085}$ ;  $r^2 = 0.97$



**Figura 16.** Relación talla/peso de las larvas de merluza europea desde la eclosión hasta los 58 días de vida



**Figura 17.** Juvenil de merluza cultivado en las instalaciones del IEO de 105 días de edad

La supervivencia larvaria a los dos meses de vida fue del 12%, incrementándose posteriormente la mortalidad debido al alto nivel de canibalismo observado en los tanques de cultivo, llegando finalmente a sobrevivir los más predadores.

Los valores medios de longitud total y peso húmedo de los 25 supervivientes a los 105 días de edad fueron  $LT = 52 \pm 4.20$  mm y  $WW = 0.972 \pm 0.32$  mg, respectivamente (Figura 17) y a los 250 días después de la eclosión el último superviviente tenía una longitud total de 105 mm y un peso húmedo de 51 g.

## Discusión

En este trabajo la eclosión duró 4 días de incubación a la temperatura de 14°C y el consumo del saco vitelino tiene lugar 6 días después de la eclosión, cuando comienza la alimentación exógena. Estos datos encajan muy bien con los de Sánchez et al. (2011) trabajando con esta especie a la misma temperatura, quienes reportan los mismos números de días para ambos períodos. La absorción total del saco vitelino y la edad de inicio de la alimentación exógena (6 días después de la eclosión) coinciden también con los valores aportados por Bjelland y Skiftesvik (2006) para la misma especie en Noruega. Bustos y Landaeta (2005) indican sin embargo 9 días para la completa absorción del saco vitelino en *Merluccius australis* (Hutton, 1872) en Chile, pero en este caso las larvas fueron cultivadas a temperatura más baja (11.5°C).

La característica específica de la merluza, de poseer en el momento de la eclosión unas larvas con gota de grasa bien adherida a la parte posterior del vitelo y otras con gota no adherida al vitelo, ya había sido citada previamente por Bustos et al. (2007) en la merluza del sur de Chile (*M. australis*) y por Iglesias et al. (2013) para la merluza europea (*M. merluccius*). En ambos trabajos se señala que un alto porcentaje de las larvas con gota de grasa no adherida presentan una alta tasa de mortalidad en el primer período de cultivo larvario. Esto hecho puede explicar la baja supervivencia larvaria obtenida en este trabajo (12%) a los dos meses de cultivo larvario, ya que se partió de una puesta con un alto grado de larvas con gota de grasa mal adherida (80%) en la eclosión.

La combinación de rotífero (*B. plicatilis*) en co-alimentación con nauplios de Artemia constituyó una dieta viva apropiada para el primer mes de cultivo larvario de la merluza europea. Bjelland y Skiftesvik (2006) también obtuvieron resultados positivos en el cultivo larvario de la merluza utilizando rotíferos y nauplios de zooplancton silvestre como presas vivas. Iglesias et al. (2011) señalaron posteriormente que es posible iniciar la alimentación de las larvas de merluza solamente con nauplios de Artemia, obteniéndose resultados de supervivencia y crecimiento similares. Este trabajo presenta por primera vez en España datos de crecimiento de las larvas de merluza

Europea hasta los 240 días de vida. Los resultados de la longitud total y el peso seco de las larvas recién eclosionadas aportados en este trabajo (3.28 mm y 0.059 mg, respectivamente), se ajustan mucho a los señalados por Sánchez et al. (2011), que citan  $3.20 \pm 0.13$  mm de LT y  $0.064 \pm 0.01$  mg de pesos seco, respectivamente. A los 20 días después de la eclosión las larvas de merluza tienen una longitud total de 4.81 mm y un peso en seco de 0.146 mg; estos valores son similares a los aportados por Iglesias et al. (2013) que señalan una LT de  $4.53 \pm 0.12$  mm y  $0.095 \pm 0.027$  mg de peso seco a la misma edad. Bjelland y Skiftesvik (2006) dan una longitud total de 5 mm para la edad de 25 días.

Las altas tasas de crecimiento observadas durante el primer mes de vida (5.89-16.15%) corresponden con el periodo de alimentación viva a base de rotífero y artemia. Sin embargo, cuando las presas vivas son reemplazadas por alimento seco particulado, la tasa de crecimiento diario se reduce progresivamente hasta 7.65%. Las post-larvas de merluza no aceptaron fácilmente el pienso seco suministrado en este trabajo, por lo que se necesita una investigación adicional sobre este aspecto para conocer los requerimientos nutricionales de la merluza europea y desarrollar finalmente su dieta inerte idónea.

Que el primer pico de mortalidad se observe durante los primeros 20 días de vida tiene su explicación debido a que el 80% de las larvas recién eclosionadas presentaban una gota de grasa no adherida al saco vitelino. Iglesias et al. (2013) señalan que la presencia de un alto porcentaje de este tipo de larvas en la eclosión afecta negativamente al crecimiento y supervivencia, muriendo la mayoría de ellas en un periodo de 15-20 días. Por otro lado, la mortalidad adicional observada a los dos meses de vida puede ser una consecuencia de la necesidad de una presa de mayor tamaño a esa edad. Ciertamente, hemos observado que después de dos meses la merluza europea es muy voraz e incluso muestra canibalismo entre sus congéneres, atacando los mayores ejemplares a los de menor tamaño existentes en el tanque de cultivo (Figura 18).

Para superar el periodo de destete del atún rojo (*Thunnus thynnus*), Ortega et al. (2011) utilizan larvas de dorada como presa viva intermedia antes de introducir los piensos secos comerciales. Nosotros estamos actualmente probando una estrategia alimentaria similar, utilizando una presa intermedia de mayor tamaño (aprox. 2 cm de longitud), entre la artemia y el pienso seco, los misidáceos de las especies: *Siriella*

*armata* (Milne-Edwards, 1837) and *Leptomysis* sp., que son muy abundantes en las costas gallegas y muy bien aceptados por los juveniles de la merluza europea.



**Figura 18.** Canibalismo observado en juveniles de merluza de 2 meses de edad

## **X.-CONCLUSIONES**

Los resultados alcanzados en este trabajo han establecido, no sólo las condiciones necesarias para la captura, aclimatación y obtención de puestas en cautividad de la merluza europea, sino también un protocolo estandarizado para realizar la fase de cultivo larvario a escala semi-industrial. Las principales conclusiones del mismo son las siguientes:

- Se ha confirmado la utilidad de un arte de pesca especialmente diseñado para la obtención de merluza viva, capturándose en una semana más de mil ejemplares de los cuales 300 pudieron ser estabulados en las instalaciones del IEO.
- Se ha comprobado la eficiencia del método de punción abdominal, imprescindible para la recuperación de aquellos peces que mostraban dilatación de la vejiga natatoria.
- La utilización de agua fría bombeada desde una profundidad de 10-15 metros y el mantenimiento de oxígeno a saturación en los tanques, han sido determinantes para obtener una elevada supervivencia en los procesos de acondicionamiento y transporte.
- Se determinó la secuencia de alimento a lo largo del tiempo, pasando sucesivamente de alimento vivo, a congelado y finalmente a pienso inerte. La dieta suministrada ha sido apropiada para el mantenimiento de los reproductores y la posterior obtención de puestas viables.

- Se han establecido las condiciones necesarias para obtener puestas viables en cautividad, paso fundamental para iniciar la fase de cultivo larvario.
- La falta de adherencia de la gota de grasa en el saco vitelino de las larvas de merluza europea en el momento de la eclosión, constituye un factor determinante a la hora de definir “la calidad” de las larvas al iniciar un cultivo larvario: Un mayor porcentaje de larvas con gota de grasa adherida al saco vitelino, implicará una mejor supervivencia posterior del cultivo larvario.
- Para alimentar las larvas a partir del día 6 de vida, la combinación de rotífero (*B. plicatilis*) en co-alimentación con nauplios de Artemia y utilizando fitoplancton en el medio de cultivo, constituyó una dieta viva apropiada para el primer mes de cultivo larvario de la merluza europea.
- La densidad de rotífero en el tanque de cultivo debe ser de 0.2 ind mL<sup>-1</sup>, y la de artemia 0.3 ind mL<sup>-1</sup>, utilizando una densidad larvaria de 10 larvas L<sup>-1</sup>. La temperatura de cultivo larvaria debe ser la misma que la utilizada en incubación (14-15°C), manteniéndose durante todo el proceso larvario.
- Se han calculado las ecuaciones de crecimiento en longitud total y en peso seco de las larvas de merluza para los dos primeros meses de vida.
- Se determinó por primera vez que el canibalismo constituye la primera causa de la mortalidad observada a partir del segundo mes de cultivo.
- Se ha comprobado la buena aceptación de los misidáceos (de tamaño aproximado de 2 cm) para ser utilizados como dieta de transición entre la artemia y el pienso seco.

## **XI.- BIBLIOGRAFIA**

- Bjelland R. M. 2001. European hake, *Merluccius merluccius* (L. 1758), a new candidate for aquaculture? Rearing techniques, larval development and startfeeding. Thesis doctoral. Department of Fish. and Mar. Biol. University of Bergen, Norway. 75pp.
- Bjelland, R.M. and A.B. Skiftesvik. 2006. Larval development in European hake (*Merluccius merluccius* L.) reared in a semi-intensive culture system. *Aquaculture Research* 37, 1117-1129.

- Bustos, C.A. and M.F. Landaeta. 2005. Desarrollo de huevos y larvas tempranas de la merluza del sur, *Merluccius australis*, cultivados bajo condiciones de laboratorio. *Gayana* 69, 402-408.
- Bustos C. A., Balbotín F. & Landaeta M. F. 2007a. Spawning of the southern hake *Merluccius australis* (Pisces: Merluccidae) in Chilean fjords. *Fisheries Research* 83: 23-32.
- Bustos C. A., Landaeta M. F., Bay-Schmith E., Lewis R. & Moraga X. 2007b. Effects of temperature and lipid droplet adherence on mortality of hatchery-reared southern hake *Merluccius australis* larvae. *Aquaculture* 270 (2007): 535–540.
- Deplano M., Diaz J.P., Connes R., Kentouri-Divanach M. & Cavalier F. (1991) Appearance of lipid-absorption capacities in larvae of sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to exotrophic phase. *Marine Biology* 108, 361–371.
- Diaz J.P., Mani-Ponset L., Blasco C. & Connes R. (2002) Cytological detection of the main phases of lipid metabolism during early postembryonic development in three teleost species: *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata* and *Stizostedion lucioperca*. *Aquatic*.
- Iglesias, J., M.J. Lago, F.J. Sánchez and R. Cal, 2010. Capture, transport and acclimatization to captivity of European Hake (*Merluccius merluccius* L.). Preliminary data on feeding and growth. *Aquaculture Research* 41, 607-609.
- Iglesias, J., M.J. Lago, J.J. Otero, F.J. Sánchez and R. Cal. 2011. Tamaño de presa óptimo en la primera alimentación de las larvas de la merluza europea, *Merluccius merluccius*. In: *Actas of XIII Congreso Nacional de Acuicultura. P- 017. Castelldefels. Spain. 21/11/2011-23/11/2011*.
- Iglesias, J., M.J. Lago, J.J. Otero, C. Gómez, R. Cal and F.J. Sánchez. 2013. Effect of the lipid droplet adherence on growth and survival of the European hake (*Merluccius merluccius*) larvae. *Aquaculture Research*. DOI:10.1111/are.12121.
- Iglesias J. (2013). Avances sobre el cultivo de la merluza europea (*Merluccius merluccius*) en España, Comunicación oral. Congreso Internacional de Acuicultura: I AquaPerú. Lima Dic. 2013.
- Jolivet A. de Pontual H., Garren F. & Bégout M. L. 2009. Effects of T-bar and DST Tagging on Survival and Growth of European Hake. J. Nielsen et al. eds. *Tagging and Tracking Marine Animals with Electronic Devices. Reviews: Methods and Technologies in Fish Biology and Fisheries*. 10.1007/978-1-4020-9640-2\_11

- Keniry M.J., Brofka W.H., Horns W.H. & Marsden J. E. 1996. Effects of decompression and puncturing the gas bladder on survival of tagged yellow perch. *North American Journal of Fisheries management* 16: 201-206.
- Ortega, A., M. Seoka, A. Belmonte, J.R. Prieto, J. Viguri and F. de la Gándara. 2011. Cultivo larvario de atún rojo (*Thunnus thynnus*) en el Centro Oceanográfico de Murcia (IEO). In: *Actas del XIII Congreso Nacional de Acuicultura. Castelldefels Spain*. 21/1172011-23711/2011.
- Ortiz-Delgado, J.B., J. Iglesias, F.J. Sánchez, R. Cal, M.J. Lago, J.J. Otero and C. Sarasquete. 2012. A morphohistological and histochemical study of hatchery-reared European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758), during the lecitho-exotrophic larval phase. *Scientia Marina* 76(2), 259-271.
- Otero, J.J., Lago, M.J., Sánchez, F.J., Cal, R., Gómez, C., Iglesias, J. (2014, en prensa). Preliminary report on larval rearing and cannibalism in European hake (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758) in Spain. *Journal of Applied Aquaculture*.
- Piñeiro, C., J. Rey, H. de Pontual, R. Goñi. 2007. Tag and recapture of European hake (*Merluccius merluccius* L.) off the Northwest Iberian Peninsula: first results support fast growth hypothesis. *Fisheries Research* 88, 150-154.
- Pontual H., Bertignac M., Battaglia A., Bavouzet G., Moguedet P. & Groison, A.L. 2003. A pilot tagging experiment on European hake (*Merluccius merluccius*): methodology and preliminary results. *ICES J. Mar. Sci.* 60: 1318-1327.
- Poupard G., Andr\_e M., Durliat M., Ballagny C., Boeuf G. & Babin P.J. (2000) Alipoprotein E gene expression correlates with endogenous lipid nutrition and yolk syncytial layer lipoprotein synthesis during fish development. *Cell and Tissue Research* 300, 251–261.
- Sánchez, F.J., J.J. Otero, R. Cal, M.J. Lago, C. Gómez and J. Iglesias. 2011. The first spontaneous spawning of European hake *Merluccius merluccius* L.: Characteristics of eggs and early larval stages. *Aquaculture Research* 43: 1729-1733.
- Velasco F. & Olaso I. 1998. European hake *Merluccius merluccius* (L., 1758) feeding in the Cantabrian Sea: seasonal, bathymetric and length variations. *Fisheries research* vol. 38, n°1, pp. 33-44.

## **2. Relación de revistas técnicas en las que se ha publicado el trabajo, o bien avances o resúmenes del mismo.**

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

Ortiz-Delgado, J.B., J. Iglesias, F. J. Sánchez, R. Cal, M. J. Lago, J.J. Otero and C. Sarasquete (2012). A Morphohistological and Histochemical study of hatchery-reared European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus,1758), during the lecito-exotrophic larval phase. *Scientia Marina*, 76(2): 259-271.

Iglesias, J., M.J. Lago, J.J. Otero, C. Gómez, R. Cal, F.J. Sánchez (2013). Effect of the lipid droplet adherence on growth and survival of the European hake (*Merluccius merluccius*). *Aquaculture Research*. doi:10.1111/are.12121.

Iglesias J. (2013). Avances sobre el cultivo de la merluza europea (*Merluccius merluccius*) en España, Libro de actas del Congreso Internacional de Acuicultura: I AquaPerú. Lima Dic. 2013.

Otero, J.J., Lago, M.J., Sánchez, F.J., Cal, R., Gómez, C., Iglesias, J. (2014, en prensa). Preliminary report on larval rearing and cannibalism in European hake (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758) in Spain. *Journal of Applied Aquaculture*.

(Se adjuntan en Anexo 1 las publicadas los dos últimos años, que suponen las aportaciones más novedosas sobre el cultivo larvario de la especie).

### **Videos**

Vídeo en el XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid. Iglesias J, J. Hernández, F. J. Sánchez, M. J. Lago y R. Cal. (2009). *Merluccius merluccius*, captura, aclimatación y obtención de puestas. Disponible en e-IEO, Repositorio del IEO (<http://www.repositorio.ieo.es/e-ieo/handle/10508/650>) y en el canal de Youtube del IEO ([www.youtube.com/watch?v=ri9VQkxku\\_8](http://www.youtube.com/watch?v=ri9VQkxku_8)).

### **Otros artículos-programas de divulgación**

Primera reproducción de la merluza europea en España, el IEO de Vigo de nuevo pionero. Artículo de prensa puesta en la Web del IEO en el mes de julio de 2009 y reproducida posteriormente en Radios (Radio Nacional, Onda cero, Radio Galega), Televisiones (TV1, TV1-Internacional; TV5, Antena 3, TVG,) y Revistas Especializadas (Mis Peces, Observatorio Nacional de Acuicultura, Industrias Pesqueras, Industria Atunera, IP-Acuicultura, Europa Azul).

### 3. Relación de congresos en los que se ha presentado el trabajo

Póster en el XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas, O Grove.

Hernández-Urcera, M.J. Lago, J. Iglesias, F.J. Sánchez y R. Cal (2008). Obtención de un stock de reproductores de merluza europea, *Merluccius merluccius*: Captura, transporte y estabulación.

Iglesias J., M.J. Lago, J. J. Otero, F.J. Sánchez y R. Cal (2011). Tamaño de presa óptimo en la primera alimentación de las larvas de la merluza europea, *Merluccius merluccius*. Comunicación oral en el XIII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid Oc. 2011.

Sarasquete C., J.B. Ortiz-Delgado, J.J. Otero, R. Cal, M.J. Lago, F.J. Sanchez, J. Iglesias (2011). Ontogenia digestiva y visual de la merluza Europea, *Merluccius merluccius* L. durante la fase endo-exotrófica. Comunicación oral Nº 292. XIII Congreso Nacional de acuicultura 2011. Castelldefels.

Sánchez, F.J., Otero, J.J., Cal, R.M., Lago, M.J., Gómez, C., Iglesias, J. (2011). Características morfológicas de los huevos y las larvas de la merluza europea (*Merluccius merluccius* L.). Poster en IV Foro Iberoamericano de Recursos Marinos y Acuicultura (FIRMA 2011). Viana do Castelo. Portugal.

Nande M., J. Iglesias, F.J. Sánchez and M. Pérez (2013). Evolución y desarrollo morfológico e histológico de la gota de grasa en embriones de merluza europea (*Merluccius merluccius* L.). Poster en XIV Congreso Nacional de Acuicultura. Gijón, 23-25 septiembre 2013.

Nande M., J. Iglesias, F.J. Sánchez y M. Pérez (2013). Mecanismo de adhesión de la gota de grasa en embriones de merluza europea (*Merluccius merluccius* L.). Póster en XIV Congreso Nacional de Acuicultura. Gijón, 23-25 septiembre 2013.

Santafé-Muñoz, A., M. Pérez, J. Iglesias, F.J. Sánchez, A. Pita y P. Presa (2013). Desarrollo y evaluación de microsatélites derivados de EST para la gestión ecuménica de la merluza europea *Merluccius merluccius*. Póster en XIV Congreso Nacional de Acuicultura. Gijón, 23-25 septiembre 2013.

Santafé-Muñoz A., A. Pita, J. Iglesias, M. Pérez and P. Presa. (2013). Genetic Structure of a Hatchery Stock of The European Hake *Merluccius merluccius* Inferred by Transcriptome-Derived Microsatellite Markers. Aquaculture Int. Congress. Las Palmas. Sept.2013.

Iglesias J. (2013). Avances en el cultivo de la merluza europea (*Merluccius merluccius*) en España. Comunicación oral en el Congreso Internacional de Acuicultura: I AquaPerú, Lima Dic. 2013.

Iglesias J. (2014). Situación actual del cultivo de la merluza (*Merluccius merluccius*). XVII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas, O Grove.

#### **4. Currículo del equipo de investigación**

(Se adjunta en Anexo 2).

#### **5. Mecanismos de transferencia de resultados a la empresa privada ya efectuada o en previsión, así como la justificación de los mismos (certificados, contratos, convenios, etc.)**

(Se adjuntan en Anexo 3 los documentos justificativos).

##### A escala nacional:

##### **EMPRESAS DE PRODUCCIÓN**

Interés de la empresa Insuiña-Pescanova en el cultivo de la merluza. La empresa Insuiña S.L. ha propuesto al IEO la posibilidad de presentar un proyecto de investigación coordinado a las convocatorias de investigación I+D+i del año 2010.

Interés de la Sociedad Cooperativa Galega Mar do Morrazo.

Empresas del sector de los piensos como Skretting ya han establecido contacto con el IEO de Vigo para tratar de definir un pienso adecuado para el engorde de juveniles de merluza y reproductores. Los piensos utilizados en Noruega para el engorde de bacalao, del tipo Europe 15 y 18, sirven de base para el inicio de esta fase de colaboración en temas relacionados con la alimentación y nutrición de ésta especie.

##### **ACUARIOS**

Interés de colaboración del Aquarium Finisterrae de A Coruña y del Aquarium Galicia de O Grove, para colaborar con el IEO de Vigo, con el fin de poder disponer de ejemplares adultos de merluza europea para su exposición al público.

##### **CENTROS DE INVESTIGACIÓN**

Colaboración ya establecida con el CIMA de Vilanova de Arousa (Xunta de Galicia) para el estudio de la composición bioquímica de las larvas y postlarvas producidas.

Colaboración ya establecida con el Instituto de Ciencias Marinas del CSIC en Cádiz para el estudio de la histología y Ontogénia de las larvas de merluza.

Interés de colaboración del Departamento de Genética de la Universidad de Lugo para aplicación de técnicas de Genómica en el cultivo de la merluza.

Interés de colaboración del Grupo de Investigación de Recursos Genéticos Marinos de la Universidad de Vigo para colaborar en proyectos coordinados IEO-ECIMAT-UVIGO.

Interés de colaboración del Centro de ciencias Marinas de Toralla (UVigo) para desarrollar experiencias coordinadas con larvas de merluza europea.

A escala Internacional:

Acuerdo de colaboración ya establecido con la Fundación Chile para colaborar institucionalmente con el IEO en un proyecto de diversificación de especies marinas, entre las que se encuentran la merluza austral, *Merluccius australis* y la merluza europea, *Merluccius merluccius*.

Propuesta coordinada de una Acción COST solicitada a la Unión Europea para la investigación coordinada sobre el cultivo de Gádidos, entre los que se encuentra la merluza. Título: "Cod and other gadoid culture (Pollack, Hake, Whiting and Haddock) for European Aquaculture". Coordinador: Dr David Jackson. Marine Institute of Rinnville. Irlanda.

Propuesta de proyecto de investigación solicitado a la Unión Europea para el cultivo de merluza europea en la que participan centros de investigación y empresas del sector. Título: "Making hake ready for Aquaculture. Coordinador Dr Autrey J. Geffen. University of Bergen. Noruega.

En definitiva, a pesar de que el hablar del cultivo de la merluza es todavía prematuro en España, con las actividades de investigación desarrolladas en el IEO de Vigo, se han establecido las pautas científicas y tecnológicas básicas necesarias para iniciar el cultivo de una nueva especie con un alto valor comercial en el mercado de la acuicultura española. Esta aportación del IEO podría favorecer, al igual que en su momento lo fue para el rodaballo, besugo, centolla o pulpo, una mayor expansión de la colaboración entre los Organismos Públicos de Investigación, las Universidades y las empresas del sector, de hecho ya se está contemplando en las actuales convocatorias de proyectos de investigación del Plan Nacional I+D+I y autonómicas.

**6. Patentes** (sobre merluza en las que han participado otros miembros del equipo)

Montse Pérez, Juan M. Vieites and Pablo Presa. Title: Procedimiento para la identificación genética de todas las especies mundiales de merluza, *Merluccius* spp., en productos comerciales. N. de solicitud: 2237271 B2 Spanish patent Fecha de prioridad: 02/03/2006

Entidad titular: Universidad de Vigo

Empresa/s que la están explotando: ANFACO-CECOPECA, TEAXUL S. A.

Montse Pérez, Juan M. Vieites, Carlos S. Ruíz y Pablo Presa

Title: Procedimiento para la diagnosis genética de todas las especies del género *Merluccius* en la cadena alimentaria

N. de solicitud: 2237285 B2 Spanish patent Fecha de prioridad: 02/03/2006

Entidad titular: Universidad de Vigo

Empresa/s que la están explotando: ANFACO-CECOPECA, TEAXUL S. A.

**7. Memoria en la que se describen los recursos humanos, técnicos y económicos empleados en la elaboración del trabajo, así como los resultados obtenidos respecto a su aplicación práctica en las empresas de acuicultura**

**RECURSOS HUMANOS**

El personal que ha participado en la consecución de los logros alcanzados fue el siguiente:

Investigador Titular: Dr José Iglesias Estévez

Investigadora Titular: Dr Rosa Cal Rodríguez

Investigadora Titular: Dr Montse Pérez Rodríguez

Técnico I+D+I: Francisco Javier Sánchez Conde

Técnico I+D+I: Juan José Otero Pinzás

Licenciada contratada del IEO: Carmen Lidia Fuentes Moledo

Licenciado contratado del IEO: Jorge Hernández Urcera

Licenciado contratado de la UVigo: Manuel Nande Domínguez

Licenciada doctoranda: Angi Santafé-Muñoz

Ayudante Técnica: María Jesús Lago Rouco

Ayudante Técnica: Castora Gómez Ceruelo

Ayudante Técnica: Maria Sánchez Barba

Ayudante Técnica: Nuria Lluch Fernández

Ayudante Técnico: Francisco Javier Montenegro Soto

Asistencia Técnica: Gloria Cordeiro

**MEDIOS TÉCNICOS**

Los medios técnicos utilizados han sido el Buque Oceanográfico del IEO “Francisco de Paula Navarro” y la planta de cultivo que el IEO dispone en Cabo Estay (Canido-Ría de Vigo).

***B/O Francisco de Paula Navarro***

A continuación se detallan las características técnicas del buque “Francisco de Paula Navarro”:

Barco polivalente para pesca y oceanografía

Matrícula: 8ª BA 2/1-91

Puerto base: La Coruña

Distintivo de llamada: EGES

Eslora total: 30.46 m

Manga fuera forros: 7.40 m

Calado máximo: 4.26 m  
Tonelaje bruto: 178.00 t  
Caballaje total: 750.00 CV  
Velocidad máxima: 11.00 n  
Personal tripulante: 10  
Personal científico: 7  
Balsas: 42 personas  
Chalecos salvavidas: 26  
Generadores: dos de 50 kw  
Tipos de corriente: 380, 220 (trifásica), 24 y 12 v  
Tipo de hélice: palas reversibles  
Capacidad de gasoil: 24/32.000 litros  
Autonomía: 10 días  
Capacidad de agua dulce: 9400 l  
Congeladores y cámara frigorífica de 0.8 m<sup>3</sup> y 3 m<sup>3</sup>, respectivamente

Material de cubierta:

Torno oceanográfico: 2000 m, cable 6 mm, peso máx. 1500 kg  
Torno cable eléctrico o de acero, 2000 m, cable 8 mm, peso máx. 1500 kg  
Grúa hidráulica: 1100 kg, longitud 5 m, cable 6 mm, 400 m de longitud  
Maquinilla de arrastre de 6000 kg, 2200 m de cable y 3,5 m<sup>3</sup> red  
Soporte para botellas Niskin y Nansen  
Mesa para triado de pescado  
Embarcación auxiliar: Zodiac, 25 CV, gasolina

Material de puente:

Radar: dos, Kioritsu y Kelvin Huges de 72 y 96 millas  
Ecosonda: tres, Furuno 1000 m, Simrad EQ-100 1200 m y Skipper ET-127 2000 m  
Piloto automático: Eacal-Decca 4506  
Facsímil: Furuno FX-240  
Giroscópica: Decca-Microtecnica  
Comunicaciones: 2 VHF, 1 HF, 1 móvil (626812488), 1 VHF portátil SV  
Intercomunicadores: telefonía interior y megafonía  
Sistema de navegación: Racal-Decca, Loran-sat, GPS-plotter  
Radiobaliza: Jotron, Sarsat-Cospas 406 mhz.

Laboratorio:

Se dispone de un espacio (laboratorio) de unos 15 m<sup>2</sup>, con zonas seca y húmeda, con preinstalación para aparatos de medida, filtración, etc. y en cubierta mesa de triado.

Utilización

habitual:

Este buque es utilizado habitualmente en campañas de pesca y oceanografía, en toda la costa española y principalmente en el noroeste Atlántico, sur Atlántico y Mediterráneo

**La planta de cultivos**

El IEO de Vigo dispone de una planta de cultivos anexa al edificio principal, con una superficie construida de 1900 m<sup>2</sup> que posee toda la infraestructura necesaria para el desarrollo del cultivo integral de especies marinas y que se divide en tres plantas.

La planta superior de 400 m<sup>2</sup>, se destina a despachos, biblioteca y un laboratorio de biología molecular para realizar pruebas de inmunología. Encima de esta planta se dispone de un tanque de reserva de agua con una capacidad de 80 m<sup>3</sup>. De dicho tanque salen 4 tuberías que suministran por gravedad de agua a toda la planta.

La planta baja tiene 700 m<sup>2</sup> y consta de:

- Zona de reproducción con 4 tanques de 12 m<sup>3</sup>.
- Zona de incubación con 10 tanques cilindro cónicos de 150 L y 3 de 500 L.
- Zona de cultivo larvario con 6 tanques de 500 L, 6 tanques de 1000 litros 6 de 2000 y 2 de 10000 L.
- Zona de destete con 24 tanques cuadrados de 500 L.
- Zona de fitoplancton. Una cámara isoterma de 8 m<sup>2</sup> para cepas y balones de 6 L y otra de 18 m<sup>2</sup> para bolsas de 300 L.
- Laboratorio anexo para fitoplancton con estufa, liofilizador, autoclave, desecador, nevera y almacén para material de vidrio.
- Zona de cultivo de rotífero y Artemia: Consta de un laboratorio de 16 m<sup>2</sup>, 6 tanques de hormigón de 4 m<sup>3</sup> c/u, 6 tanques de 1000 L, 2 tanques de 500 L y 3 tanques de 250 L para el rotífero. Para el cultivo de artemia disponemos de 3 tanques de 500 L, 4 tanques de 150 L y 4 tanques de 50 L.
- Cámara isoterma de 8 m<sup>2</sup> para la realización .de pruebas con distintas temperaturas.
- Laboratorio húmedo con sistema de recirculación de agua y con 12 tanques de 150 L, para realizar pruebas de todo tipo, a nivel cultivo larvario de pulpo, besugo, lenguado.
- Laboratorio seco dotado con el equipamiento necesario para los trabajos rutinarios de la planta (lupas binoculares, microscopios, congelador de -80°C, nevera, oxímetros, medidor de gases, medidor de CO<sub>2</sub>, mufla, etc.).

La planta sótano tiene 800 m<sup>2</sup> y consta de:

- Zona de reproducción y fotoperiodo con 5 tanques de 32 m<sup>3</sup> y 2 de 120 m<sup>3</sup>.
- Zona de preengorde y engorde, dispone de 4 tanques cuadrados de 16 m<sup>3</sup> y 10 tanques de 4 m<sup>3</sup>.
- Laboratorio para pruebas de genética y fecundación.
- Una antecámara para piensos de 4 m<sup>2</sup>.
  - Una cámara de conservación a 0 °C de 4 m<sup>2</sup>.
  - Una cámara de congelación -20 °C de 9 m<sup>2</sup>.
- Sala de maquinas, con una bomba de calor que puede suministrar 104000 frigorías/hora, una caldera que suministra 323000 Kcal hora<sup>-1</sup> y con una capacidad de filtración por arena de 60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>.
- Sala de bombeo con 3 bombas de 13 Kw que suministran 80 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>. También se dispone de 2 bombas sumergibles que dan un caudal de 80 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> y que impulsan el agua a un depósito intermedio de 21 m<sup>3</sup> de capacidad. De dicho depósito y después de haber sido retiradas las macroalgas mediante una cinta transportadora, se envía el agua al depósito de reserva mediante 2 bombas de 14 Kw.

- Sala de turbo soplantes con un caudal de  $250 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  y una presión de 300 mbar.
- Sistema monitorizado de inyección de oxígeno para los tanques de reproductores.
- Anexo a esta planta tenemos un invernadero con 10 tanques de  $4 \text{ m}^3$ .

#### MEDIOS ECONÓMICOS

Durante los años 2007 a 2014, la investigación ha sido financiada por el IEO a través del proyecto “Viabilidad del cultivo de la merluza” (acrónimo CULMER), con un montante anual de 30.000 €, incluyendo dedicación de personal y material de laboratorio.

Adicionalmente, los costes de utilización del buque oceanográfico Francisco de Paula Navarro ascendieron durante los años 2007 y 2008 a un total de 62.000 €, aportados también por el IEO.

## Resultados obtenidos de posible transferencia al sector industrial

Los resultados obtenidos hasta la fecha están relacionados con diferentes aspectos metodológicos (*know-how*) que serán de gran interés para cualquier empresa acuicultura que se decidiese a abordar el cultivo de esta especie:

- Se ha confirmado la utilidad un arte de pesca especialmente diseñado para la obtención de merluza viva, capturándose en una semana más de mil ejemplares de los cuales 300 pudieron ser estabulados en las instalaciones del IEO.
- Se ha comprobado la eficiencia del método de punción abdominal, imprescindible para la recuperación de aquellos peces que mostraban dilatación de la vejiga natatoria.
- La utilización de agua fría bombeada desde una profundidad de 10-15 metros y el mantenimiento de oxígeno a saturación en los tanques, han sido determinantes para obtener una elevada supervivencia en los procesos de acondicionamiento y transporte.
- Se determinó la secuencia de alimento a lo largo del tiempo, pasando sucesivamente de alimento vivo, a congelado y finalmente a pienso inerte. La dieta suministrada ha sido apropiada para el mantenimiento de los reproductores y la posterior obtención de puestas viables.
- Se han establecido las condiciones necesarias para obtener puestas viables en cautividad, paso fundamental para iniciar la fase de cultivo larvario. El IEO de Vigo dispone actualmente del único stock de merluza europea existente en España.
- La falta de adherencia de la gota de grasa en el saco vitelino de las larvas constituye un factor determinante a la hora de definir “la calidad” de las mismas en la eclosión: Un mayor porcentaje de larvas con gota de grasa adherida implicará una mejor supervivencia posterior del cultivo larvario.
- Se ha establecido un protocolo de cultivo larvario de la merluza europea, por lo que se puede transferir al sector industrial el paquete tecnológico de cultivo para los dos primeros meses de vida.
- La densidad de rotífero en el tanque de cultivo debe ser de  $0.2 \text{ ind ml}^{-1}$ , y la de artemia  $0.3 \text{ ind ml}^{-1}$ , utilizando una densidad larvaria de  $10 \text{ larvas L}^{-1}$ . La temperatura de cultivo larvaria debe ser la misma que la utilizada en incubación ( $14\text{-}15^{\circ}\text{C}$ ), manteniéndose durante todo el proceso larvario.
- Se han calculado las ecuaciones de crecimiento en longitud total y en peso seco de las larvas de merluza para los dos primeros meses de vida y se determinó por primera vez que el canibalismo constituye la primera causa de la mortalidad observada a partir del segundo mes de cultivo.
- Se ha comprobado la buena aceptación de los misidáceos (de tamaño

aproximado de 2 cm) para ser utilizados como dieta de transición entre la artemia y el pienso seco.

## **ANEXOS**

**ANEXO 1. Publicaciones 2013-2014**

**ANEXO 2. Currículo del equipo de investigación**

**ANEXO 3. Mecanismos de transferencia (justificación)**