

CAPÍTULO V: C.A. ANDALUCÍA

1. PROYECTO: DESARROLLO DE UN MONOCULTIVO SEMI-INTENSIVO DE LENGUADO (*Solea senegalensis*) EN ESTANQUES DE TIERRA.

AÑO:

Comienzo del plan: 1993

Finalización del plan: 1994

OBJETIVOS:

- Optimización de los procesos productivos mediante la mejora de las prácticas de manejo y aplicación de las técnicas de cultivo adecuado (tratamiento de fondos, renovación y recirculación de agua, optimización de cargas, eliminación de materia orgánica, detección y evaluación de poblaciones, captura y recolección, etc).
- Caracterización de parámetros físico – químicos indicadores de la calidad del medio en los estanques de cultivo de lenguados.
- Desarrollo de las técnicas de alimentación para esta especie (tipo de pienso, granulometría, dosificación y forma de aplicación).

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.

Centro: Dirección General de Pesca y Acuicultura.

Organismo: Empresa CUPIMAR S.A.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Isaac.

Apellidos: Santaella Sánchez.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La experiencia se realiza en cuatro naves de la Salina Santa Margarita, situada en el Término Municipal de San Fernando (Cádiz). Limita al Norte con la Salina San Agapito, al Sur con la Salina Francisco de Asís, al Este con el Caño de Sancti-Petri y al Oeste con el Caño del Carrascón.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Se plantea la realización del cultivo en dos ciclos diferenciados:

- Preengorde: Partiendo de alevines de 200 mg hasta los 80 g de peso medio.
- Engorde: Desde los 80 g hasta la talla comercial (250 – 300 g).

Ciclo de preengorde

Durante el primer año del proyecto se inicia el ciclo de preengorde, sembrándose alevines de lenguado parcialmente destetados (50% de pienso) en 75 días. Los alevines proceden del criadero de Cupimar y se introducen en 4 estanques de 1.000 m² cada uno.

La densidad de siembra utilizada es de 5 ind/m² en los tanques 4 A y 4 B, y de 10 ind/m² en los tanques 4 A' y 4 B'.

La tasa diaria de renovación de agua en los estanques se establece en el 30%.

Se utilizan dos tipos de pienso para realizar el preengorde:

- Pienso extruido comercial para dorada.
- Pienso experimental para lenguado enriquecido en enzimas digestivos, desarrollado en Cupimar.

En la siguiente tabla se resumen las condiciones de siembra y alimentación de las diferentes unidades de cultivo:

UNIDAD	INDIVIDUOS SEMBRADOS	TIPO DE PIENSO
Margarita 4 A	5.000	Extruido
Margarita 4 A'	10.000	Extruido
Margarita 4 B	5.000	Extruido + Enzimas
Margarita 4 B'	10.000	Extruido + Enzimas

Con carácter rutinario y con una periodicidad semanal se establece un programa de muestreo de parámetros físico – químico – biológicos, tanto del agua de los estanques de cultivo, como del fondo de los mismos.

En las muestras de agua se determinan los siguientes parámetros:

- Oxígeno disuelto.
- pH.
- Temperatura (máxima y mínima).
- Salinidad.
- Concentración de nitritos.
- Concentración de amonio total.

En las muestras de sedimento se han determinado los siguientes parámetros:

- Potencial Redox.
- Presencia de organismos zooplanctónicos.

Con una periodicidad mensual se colocan nasas en los diferentes estanques de cultivo, pescándose un número variable de individuos, de los que se mide su talla y peso.

Ciclo de engorde

Una vez pescados los lenguados de preengorde (Agosto '95) son trasladados a las unidades de engorde donde se reanuda el ciclo de cultivo. Se siembran 2.883 lenguados de aproximadamente 50 g en una unidad de cultivo de 1.000 m². La densidad de siembra es de aproximadamente 3 ind/m². La tasa diaria de renovación de agua se establece en el 50%.

Los lenguados se alimentan con pienso normal de dorada (marca Trow, extruido del 16% de grasa). La tasa de alimentación se fija en un porcentaje variable según la edad de los individuos y la temperatura del agua. En la siguiente tabla se encuentran las dosis empleadas según el peso de los animales y la temperatura del agua.

Dosificación de alimento inerte para engorde de lenguados.^o				
Peso medio	Tamaño gránulo	15-20 °C	20-25 °C	25-30 °C
50-125 gr	2 mm		2	2,5
125-200 gr	3 mm	1	1,5	
200-300 gr	4 mm		1	1,5

Con carácter rutinario y con una periodicidad semanal se establece un programa de muestreo de parámetros físico – químicos – biológicos, tanto del agua de los estanques, como del fondo de los mismos.

En las muestras de agua se determinan los siguientes parámetros:

- Oxígeno disuelto.
- pH.
- Temperatura (máxima y mínima).
- Salinidad.
- Concentración de nitritos.
- Concentración de amonio total.

En las muestras de sedimento se determinan los siguientes parámetros:

- Potencial Redox.
- Presencia de organismos zooplanctónicos.

Con periodicidad mensual se colocan nasas en el estanque de cultivo, pescándose un número variable de individuos. En ellos se determina el peso medio, devolviéndose los individuos pescados a la unidad de cultivo.

Resultados:

Ciclo de preengorde

Los resultados obtenidos en los controles físico – químico – biológicos practicados en los estanques de cultivo muestran que todos los parámetros medidos

(concentración de oxígeno disuelto, pH, temperatura máxima y mínima, salinidad, concentración de nitritos, concentración de amonio total, medición del potencial redox y evolución de la productividad bentónica en sedimentos de los estanques) se encuentran dentro de los límites normales y lejos de los umbrales de toxicidad.

Los resultados de crecimiento de los individuos cultivados son poco representativos de la población, al haberse pescado mediante nasas muy pocos individuos.

La supervivencia media global es del 9,61% y significativamente mayor en los estanques de siembra a menor densidad debido a la incompleta adaptación de los individuos al alimento inerte y por no existir la suficiente cantidad de alimento vivo de producción natural en los estanques de cultivo.

Ciclo de engorde

De los controles físico – químicos – biológicos practicados periódicamente en el estanque de cultivo ha de decirse que todos los parámetros medidos (calidad de las aguas y de los fondos) se encuentran dentro de los límites normales y lejos de los umbrales de toxicidad, como cabría esperar debido a la baja densidad de estabulación alcanzada. Se puede apreciar, como más destacable, la disminución progresiva de la productividad bentónica y del potencial redox del sedimento (posiblemente debido a la acumulación de residuos y, fundamentalmente, a la descomposición del pienso no consumido).

Los resultados de crecimiento son poco representativos de la población, al haberse pescado pocos individuos mediante nasas. La supervivencia global es del 88,7%.

En la siguiente tabla se muestran los diferentes parámetros de cultivo, considerando las supervivencias parciales en un 1% de la mortandad mensual.

Evolución de los principales parámetros de cultivo						
Mes	Nº ind.	P_{medio} (gr)	Biomasa (kg)	Pienso (Kg)	I.C.	SGR
Ago-95	2.883	50	144			
Oct-95	2.828	75	212	195	2,87	0,90
Nov-95	2.797	94	263	127	2,49	0,75
Dic-95	2.769	121	335	151	2,09	0,84
Ene-96	2.741	134	367	101	3,11	0,34
Feb-96	2.714	150	407	110	2,77	0,38
Mar-96	2.687	175	470	183	2,90	0,51
Abr-96	2.660	204	543	212	2,92	0,51
May-96	2.633	236	621	228	2,89	0,49
Jun-96	2.607	278	725	280	2,71	0,55
Jul-96	2.581	318	821	261	2,72	0,45
Ago-96	2.555	354	904	164	1,96	0,54

Conclusiones:

La supervivencia media global en la fase de preengorde es bastante baja debido, entre otras causas, a la incompleta adaptación de los individuos al alimento inerte y por no existir la suficiente cantidad de alimento vivo de producción natural en los estanques de cultivo. No hay diferencias significativas en cuanto al pienso utilizado, aunque dado el mayor peso medio final y la mayor supervivencia encontrada en los estanques con pienso enriquecido en enzimas, se piensa que el complejo multienzimático utilizado influye de manera positiva en el crecimiento de los lenguados.

El comportamiento del lenguado durante la fase de engorde es asimilable al comportamiento de la dorada en cuanto a ritmo de supervivencia y crecimiento se refiere. No obstante, el índice de conversión es más elevado que el obtenido en doradas, posiblemente debido a que el pienso utilizado en la alimentación de lenguados se encuentre optimizado para la dorada.

COMENTARIOS FINALES.

Se espera que cuando se produzca un pienso cuya fórmula se adapte mejor a los requerimientos del lenguado, pueda disminuirse la tasa de conversión y, de forma simultánea, mejorar la tasa de crecimiento.

Es importante destacar que las densidades de estabulación han sido bastante bajas (inferiores a 1 Kg/m²), por lo que a densidades mayores puede mejorarse el índice de conversión al disminuir la cantidad de pienso no consumido, lo que puede asimismo, contribuir a un menor deterioro del sedimento del estanque de cultivo.

2. PROYECTO: FORMACIÓN DE UN BANCO DE REPRODUCTORES DE TRES ESPECIES AUTÓCTONAS DE PECES DE INTERÉS COMERCIAL: HURTA (*Pagrus auriga*), CORVINA (*Agryrosomus regius*) Y ROMBO (*Scophthalmus rhombus*).

AÑO:

Comienzo del plan: 1993/2000
Finalización del plan:

** La ejecución de este proyecto ha sido trasladada por diversas causas a los años 2000 y 2001, actualmente se sigue con los estudios por lo que se puede considerar que el proyecto no ha finalizado.*

OBJETIVOS:

Con este trabajo se pretende poner los medios adecuados para la adquisición de los animales necesarios para la formación de un banco de reproductores, de cada una de las especies aclimatadas a condiciones de cautividad.

Una vez conseguido, los esfuerzos irán encaminados a la puesta a punto de manejo y estabulación de los animales.

Seguimiento del ciclo de maduración sexual en poblaciones adaptadas a la cautividad.

Estudio de los óptimos parámetros ambientales y biológicos para la maduración y puesta.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
Centro: CICEM "El Toruño".
CICEM "Agua"

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: José María.
Apellidos: Naranjo Márquez.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se lleva a cabo principalmente en las instalaciones del CICEM "El Toruño", situadas en el Puerto de Santa María, aunque ha de decirse que también colabora en el desarrollo del proyecto el CICEM "Agua del Pino".

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Con el fin de adquirir animales de las tres especies, con unas condiciones mínimas de viabilidad que permitan la supervivencia de la mayor parte de ellos, se produce un contacto con pescadores especializados en este tipo de capturas.

Los animales se estabulan en tanques apropiados y acondicionados, donde sufren un primer periodo de aclimatación y cuarentena, durante el cual se someten a los tratamientos adecuados con productos terapéuticos y profilácticos.

Durante un segundo periodo se ofrece a los animales distintos tipos de dietas a base de alimentos frescos hasta conseguir que recuperen el hábito alimenticio y establecer la dieta más correcta para cada especie, que permita el desarrollo y crecimiento normal de los animales.

Durante todo el proceso se efectuará el seguimiento de los siguientes parámetros:

- Observación del comportamiento.
- Control físico – químico y microbiológico del agua.
- Chequeo sanitario.
- Control de los parámetros biométricos.

Una vez conocido el ciclo sexual en cautividad, se estudiarán los efectos del fotoperiodo y la administración, si fuera prevista, de hormonas sexuales en la posibilidad de incrementar el grado de control sobre el proceso de maduración sexual en cautividad.

Resultados:

Corvina (Agryrosomus regius)

Se capturan con trasmallo un total de 120 ejemplares de corvina de entre 1 Kg y 3 Kg procedentes de la zona comprendida entre Rota y la desembocadura del Guadalquivir.

Los 120 ejemplares son sometidos a tratamientos profilácticos, obteniéndose una buena supervivencia tras la cuarentena (108 sobre 120 capturados). Tras el tratamiento profiláctico se estabulan en dos tanques de 80 m³ con circuito abierto y aireación. Desde un principio son alimentados con alimento natural, comprobándose que no lo consumen por lo que, tras tres meses sin alimentarse, comienza a producirse una muerte escalonada.

Ante la evidente dificultad para adaptar ejemplares de este tamaño a la cautividad, en el invierno del 2001 se contactó con una piscifactoría de las marismas del Guadalquivir para adquirir 150 ejemplares de entre 200 y 300 gramos. Se comprueba que con una temperatura del agua por debajo de los 7°C, hay una mortalidad masiva de las corvinas.

Después de la cuarentena y sus correspondientes tratamientos, se inicia la alimentación con alimento natural, consiguiendo que a partir de la segunda semana se alimentasen y normalizasen su comportamiento.

Hurta (Pagrus auriga)

Se pescan con anzuelo un total de 240 ejemplares de entre 200 gramos y 1 Kg, con algunos ejemplares que llegaban a 1,5 ó 2 Kg, entre las zonas de Conil y Sancti-Petri.

Después de los tratamientos profilácticos a los que son sometidos durante la cuarentena, se comprueba que toman con facilidad alimento natural apareciendo, no obstante, algunos casos de xeroftalmia.

Finalmente se estabulan un total de 120 ejemplares en un tanque de 250 m³ con un sistema de recirculación por filtro biológico, una renovación próxima al 5% y una alimentación natural, comprobándose la influencia de los crustáceos en la buena coloración y salud de los ejemplares.

Durante los años 2002 y 2003 se obtienen puestas naturales viables, teniendo en la actualidad unos 2000 juveniles de la puesta del año 2002 con un peso cercano a los 400 gramos y, de la puesta del 2003 en el criadero, unos 8000 alevines de entre 2 meses y escasos días. Las puestas en cautividad se escalonan entre los meses de octubre y mediados de enero.

Actualmente se está comprobando la viabilidad de un pienso microencapsulado para el destete, dado que los requerimientos de esta especie en cuanto a EPA y DHA son muy superiores a la dorada, y la alimentación con nauplios de Artemia, origina una alta mortalidad de los alevines y canibalismo entre ellos.

Rombo (Scophthalmus rhombus)

Durante el invierno de 2001 y 2002 se capturan frente a Sancti-Petri 80 ejemplares de entre 200 gramos y 1 Kg utilizando el arte del trasmallo.

Tras la época de cuarentena, en la que se aplican diferentes tratamientos, se estabulan en tanques exteriores en circuito abierto.

Su adaptación a la cautividad es casi inmediata, consumiendo alimento natural e incluso alimento vivo y mostrando una actividad de natación y persecución de presas muy superior a la de otros peces planos.

La limitación que presenta esta especie para su cultivo es la temperatura, pues la mortalidad de estos peces comienza a los 20°C, siendo total a los 22°C, por lo que el cultivo en las costas andaluzas parece a priori poco viable salvo que se realicen fuertes inversiones en el tratamiento térmico del agua.

Conclusiones:

Corvina (Agryrosomus regius)

El proyecto en la actualidad sigue activo, encontrándose adaptados en el Centro 110 ejemplares de entre 1,5 Kg y 3 Kg de peso, perfectamente adaptados, esperando que realicen una puesta natural.

Esta prevista la adquisición de 200 ejemplares de 250 gramos procedentes de la captura natural en las marismas del Guadalquivir.

Hurta (Pagrus auriga)

Se ha comprobado que la hurta es una especie que se adapta muy bien a la cautividad, obteniéndose puestas naturales viables.

Rombo (Scophthalmus rhombus)

Pese a ser una especie que se adapta con rapidez a la cautividad, su cultivo en las costas andaluzas es poco viable debido a las fuertes inversiones económicas que han de realizarse para el tratamiento térmico del agua.

COMENTARIOS FINALES.

El presente proyecto se ha topado con múltiples problemas para su ejecución. En un primer momento, iba a ser la empresa *Cultivos Piscícolas Marinos* quien llevase a cabo el proyecto pero, debido a que a finales de 1999 dicha empresa no había presentado un Informe Técnico, se revocó la ayuda otorgada. Debido al interés que para la Comunidad Autónoma de Andalucía presentaba este proyecto, se solicitó autorización a la Secretaría de Jacumar para trasladar el periodo de ejecución a los ejercicios 2000 y 2001, así como para que la ejecución del proyecto la asumiese la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, a través de los Centros dependientes de la misma.

3. PROYECTO: ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL CULTIVO DE VIEIRA EN MAR ABIERTO POR MEDIO DE SISTEMAS FLOTANTES

AÑO:

Comienzo del plan: 1995

Finalización del plan: 2000

OBJETIVOS:

El objetivo principal es definir una metodología de cultivo en las costas de Málaga que permita la producción de grandes cantidades de vieira, así como valorar la viabilidad del cultivo de esta especie, adecuando la metodología experimental a la tecnología de producción a gran escala.

Para lograr el objetivo principal del proyecto se definen los siguientes objetivos concretos del proyecto:

- Estudio del ciclo reproductor.
- Desarrollo de técnicas de captación de semilla con colectores.
- Desarrollo de técnicas para preengorde y engorde.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Instituto Español de Oceanografía.
Delegación Provincial de Agricultura y Pesca en Málaga.

Centro: Centro Oceanográfico de la Coruña.

Departamento: Cultivo de Moluscos.

Organismo: Delegación Provincial de Agricultura y Pesca en Málaga.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: José Ignacio.

Apellidos: López Linares.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se realiza en un polígono situado frente al Puerto de Fuengirola, en una zona reservada y adecuadamente balizada en la cual se encuentra prohibida la pesca.

Las coordenadas del polígono son las siguientes:

A: 36° 32,5´ N	4° 36,3´ W
B: 36° 32,5´ N	4° 36,2´ W
C: 36° 32´ N	4° 36,6´ W
D: 36° 32´ N	4° 36,5´ W

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología. Ciclo reproductor de *Pecten maximus* en Málaga.

El conocimiento del ciclo reproductor es esencial para optimizar la captación de semilla en colectores, para desarrollar una estrategia de extracción en función del contenido de carne de los animales a cosechar, y para una adecuada gestión de los recursos pesqueros.

El estudio se lleva a cabo entre enero de 1998 y abril de 2000, realizando muestreos aproximadamente quincenales.

Crecimiento de la gónada:

Se realiza un estudio utilizando las variaciones en el peso húmedo de la gónada de un animal estándar de 100 mm de longitud y el índice de condición de la gónada, según la fórmula:

$$IC_g = 100 \times (\text{peso seco gónada} / \text{peso de la concha})$$

Gametogénesis:

La gametogénesis se determina empleando métodos histológicos completados con análisis estereológicos.

El análisis histológico de la gónada, o al menos del ovario, es necesario por lo menos durante el primer año de estudio debido a que la vieira es una especie susceptible de sufrir lisis ovocitarias a gran escala. Por otra parte, en algunas zonas del área de distribución de la vieira se han observado generaciones sucesivas de ovocitos, por lo que conviene medirlos con el fin de precisar se existen cohortes de ovocitos en las costas de Málaga, y en caso de existir, determinar su destino final: desove o atresia seguida de lisis y reabsorción.

Para estudiar estos fenómenos, se recurre a cortes histológicos de secciones del ovario de 10 vieiras, muestreadas con una periodicidad bisemanal hasta agosto y cada tres semanas a partir de septiembre.

Ciclo de reservas:

Asociado al ciclo reproductor hay un ciclo de acumulación y empleo de reservas energéticas que se almacenan en forma de lípidos en la glándula digestiva y en forma de proteínas y glucógeno en el músculo abductor. Estas reservas energéticas son empleadas para cubrir las demandas metabólicas de mantenimiento en épocas de escasez de alimento y cuando los requerimientos energéticos de la gametogénesis lo demandan.

Para el estudio del ciclo de almacenamiento y empleo de reservas energéticas y la identificación de los substratos específicos de reserva se sigue la evolución estacional del índice de condición de los órganos que supuestamente almacenan reservas y se realizan análisis del contenido bioquímico de estos órganos, cuantificando los substratos habitualmente empleados como reserva.

Efecto del ciclo reproductor en el peso de la vianda:

Se considera como peso de la vianda la suma de los pesos frescos del músculo y de la gónada, es decir, la parte comestible. El músculo es la parte comestible más importante y muestra variaciones de acuerdo con las fases del ciclo reproductor.

Para evaluar el efecto del ciclo reproductor en el rendimiento se emplea una vieira estándar de 100 mm de longitud. Los resultados obtenidos se comparan con vieiras de 80 mm y de 120 mm de longitud.

Resultados. Ciclo reproductor de *Pecten maximus* en Málaga.

Crecimiento de la gónada:

En la siguiente tabla se muestran los valores máximos y mínimos que se han registrado en diferentes muestreos:

Evolución del peso de la gónada de una vieira estándar de 100 mm de longitud

Fecha	Peso
23/02/98	4,3 g ⇒ máximo
01/06/98	5,7 g ⇒ máximo
16/06/98	4,4 g ⇒ mínimo
29/06/98	5,8 g ⇒ máximo
10/08/98	1,2 g ⇒ mínimo
03/11/98	5,3 g ⇒ máximo
12/07/99	2,0 g ⇒ mínimo
31/01/00	6,9 g ⇒ máximo
29/02/00	7,0 g ⇒ máximo
05/04/00	3,0 g ⇒ mínimo

La variación temporal del índice de condición de la gónada sigue la misma pauta de variación que el peso de la gónada de la vieira estándar de 100 mm.

Se registran máximos del índice de condición en las siguientes fechas: 23/02/98, 01/06/98, 29/06/98, 14/12/98, 11/02/99, 23/03/99, 19/05/99 y 31/01/00.

El que los índices de condición sean bajos, indica o bien que la población ha desovado, o bien que se ha producido lisis y reabsorción de ovocitos.

Gametogénesis:

El diámetro medio (D_m) de los ovocitos oscila entre 25 y 43 μ m. En general, un aumento del D_m se encuentra asociado al aumento del valor del IC_g y del porcentaje de ovocitos atrésicos y en lisis (OAL).

El porcentaje de ocupación del ovario por ovocitos aparentemente maduros (OVF) oscila entre 7 y 57%. El OAL oscila entre el 2 y el 71%, siguiendo ambas variables una pauta de evolución opuesta.

Cuando los ovocitos son jóvenes ocupan un porcentaje alto de la gónada y en ellos la incidencia de atresia es baja pero, a medida que crecen hay un descenso en OVF debido, bien a la evacuación de los gametos, bien a un aumento en OAL, o a ambos.

Ciclo de reservas:

El índice de condición del músculo abductor presenta máximos otoñales y mínimos primaverales. En el músculo hay una acumulación de las reservas en primavera y verano que se utilizan durante el otoño e invierno.

En el músculo abductor se observa un incremento en el porcentaje de glucógeno desde finales de invierno de 1998 (3-4%) a otoño (24%). Durante el invierno se registra un descenso continuo, pero en 1999 los valores mínimos se registran en agosto, fecha a partir de la cual se inicia la recuperación.

El índice de condición de la glándula digestiva presenta máximos otoñales y mínimos en primavera, pero también muestra subidas a finales del invierno y principios de primavera.

Las reservas acumuladas en la glándula digestiva durante el verano y el otoño son empleadas durante el invierno para suministrar la energía necesaria para la gametogénesis. Sin embargo, la energía acumulada en primavera también es bombeada a la gónada durante el largo periodo de cría de esta especie en Málaga.

La glándula digestiva acumula reservas en forma de lípidos cuyos contenidos varían entre el 15 y el 55%.

Efecto del ciclo reproductor en el peso de la vianda:

La época de mayor rendimiento en vianda es en otoño, pudiéndose alcanzar 70-80 unidades/Kg con vieiras de 100 mm y 50-55 unidades/Kg con vieiras de 120 mm.

La gónada representa entre un 10 y un 40% del peso de la vianda. Desde el punto de vista comercial, la contribución de la gónada al peso de la vianda es muy importante según el mercado al que vayan destinadas las vieiras, ya que el mercado europeo exige gónada, mientras que el americano lo rechaza. De todas formas cabe reseñar que, en el mercado internacional, la carne de las vieiras alcanza mayor valor cuanto mayor es su tamaño.

Conclusiones. Ciclo reproductor de *Pecten maximus* en Málaga. Crecimiento de la gónada:

Las pautas de evolución del índice de condición gonadal y del peso seco de la gónada de vieira estándar son prácticamente paralelas, por lo que el empleo de uno sólo de estos métodos sería suficiente para realizar un seguimiento del ciclo reproductor.

En líneas generales la vieira en Málaga tiene la recuperación de la gónada en otoño y, muestra maduraciones y desoves sucesivos a lo largo del invierno, la primavera y el verano, hasta su vaciado a mediados de verano. La época de puesta es amplia y variable interanualmente tanto en intensidad como en fechas de desove.

El peso de la gónada de una vieira estándar de 100 mm de longitud muestra un rango de variación, a lo largo del tiempo, de 1 a 7 g.

La evolución de los índices de condición del músculo y de la glándula digestiva indica que hay una acumulación de reservas a partir de la primavera, que en el caso del músculo sólo se emplearán a partir del otoño, mientras que las reservas de la glándula digestiva se emplean también en primavera.

Metodología. Obtención de la semilla.

El cultivo de vieira se basa en un suministro abundante, fiable y continuo de semilla de calidad, es decir, que muestre durante su cultivo posterior tasas de crecimiento y supervivencia elevadas y cuyo valor inicial sea lo suficientemente barato como para no condicionar la rentabilidad del cultivo.

La semilla de pectínidos puede captarse en el medio ambiente empleando un tipo de colectores específicos basados en el comportamiento de las larvas próximas a la metamorfosis y de los juveniles. El sistema empleado, conocido como método japonés, utiliza un relleno de monofilamento situado en el interior de una bolsa de red fondeada en el agua.

Periodo de fijación.

La determinación del periodo de fijación es fundamental para determinar las fechas de fondeo de los colectores. Los colectores necesitan un periodo de envejecimiento de aproximadamente 15 días antes de que empiecen a captar semilla de forma adecuada.

El periodo de fijación de *Pecten maximus* es determinado empleando colectores de control fondeados cada 14 días, y se realiza el muestreo al cabo de 4 semanas de fondeo.

Efecto de la profundidad de fondeo de los colectores en la intensidad de fijación.

Las larvas de vieira, al igual que otras especies de pectínidos, muestran geotropismo positivo o fototropismo negativo; en cualquier caso este comportamiento se traduce en un incremento de la fijación en relación con la profundidad o con la oscuridad.

En Málaga las experiencias se realizan siempre sobre fondos de 30 m, ya que a esta profundidad es donde se encuentran los bancos de vieiras. Los colectores se fondean entre 1 y 20 m sobre el fondo.

Optimización de los colectores.

Se prueban distintos materiales tanto de bolsas colectoras como de red de relleno. Las bolsas colectoras utilizadas son:

- Bolsas japonesas naranjas (1 mm de malla).
- Bolsas japonesas verdes (3 mm de malla).
- Bolsas españolas de raschel de 12 Kg.

Como red de relleno se utilizan:

- Bolsa amarilla de mejillón.
- Relleno japonés de color azul.

También se prueba el efecto del número de redes de relleno colocadas dentro de una bolsa colectoras. Se emplean bolsas de raschel con cantidades variables de relleno constituido por bolsas amarillas de mejillón (1, 2 y 3 bolsas).

Parte de las experiencias se encaminan a determinar el sistema óptimo de unión de las bolsas colectoras a las líneas, suponiendo que a partir de cierta cantidad, cuantas más bolsas estén atadas en un mismo punto, menos fijaciones habrá en función del número de larvas disponibles para fijarse por unidad de volumen de agua de mar. En esta experiencia se emplean bolsas de raschel de 25 Kg con 3 bolsas de relleno nacional.

Resultados. Obtención de la semilla.

Periodo de fijación.

Este estudio se realiza entre enero de 1998 y diciembre de 1999. Se registra fijación de *Pecten maximus* durante prácticamente todo el año, aunque se registran variaciones muy acusadas en cuanto a número de fijaciones. Es decir, esta especie tiene un periodo de fijación muy dilatado.

En 1998 se registran valores máximos en los muestreos del 22 de abril, el 1 de junio y el 28 de julio. En 1999 se registran valores máximos el 21 de abril, 2 de junio, 1 de julio y 25 de agosto. Se observa una gran variación interanual en intensidad de fijación, con un máximo de 77 fijaciones por colector el 28 de julio de 1998 y, un máximo de 2637 fijaciones el 2 de junio de 1999.

Efecto de la profundidad de fondeo de los colectores en la intensidad de fijación.

Los resultados obtenidos confirman que a mayor profundidad el número de fijaciones también es mayor. Se alcanza el 50% de la fijación en los 8 últimos metros, y tan sólo el 25% en los 9 metros más superficiales.

Optimización de los colectores.

Para comprobar la eficacia de los distintos materiales, en 1997 se hace un primer intento de pruebas de material, incluyendo también colectores de control (bolsas raschel 5 Kg, de 30x40 cm con media bolsa de mejillón como relleno). Los resultados son los siguientes:

Tipo de bolsa colectoras	Nº de fijaciones de vieira
Japonesa naranja (1 mm)	1.275 ₊ 449
Japonesa verde (3 mm)	1.274 ₊ 300
Nacional (Raschel 25 Kg)	517 ₊ 238
Control (Raschel 5 Kg)	143 ₊ 64

En 1998 se realizó una segunda experiencia cuyos resultados se muestran en la siguiente tabla:

Nº semilla por Tipo de bolsa colectora				
Tipo de relleno	Raschel 25 Kg	Japonesa verde	Japon. naranja	Nº medio semilla
Español	103±133	373±129	323±115	285±166
Azul japonés	87±59	164±114	312±128	188±155
Nº medio	93±97	269±164	318±122	
Control				23±11

Un análisis a posteriori muestra que las bolsas de raschel captan un número significativamente menor de semilla que las bolsas japonesas, tanto naranjas como verdes. La mayor fijación se obtiene empleando bolsas japonesas con relleno nacional.

Los resultados obtenidos en función de la cantidad de relleno son los siguientes:

Nº de redes de relleno	Nº medio de semilla de vieira
1 red	758±220
2 redes	1.174±217
3 redes	1.537±540

El número de fijaciones aumenta con la cantidad de relleno, pero no en la relación 1:2:3.

Pese a obtener un mayor número de fijaciones empleando 3 bolsas, su despegue es más complicado. Además, cuando la fijación es elevada se pueden producir deformaciones en las conchas de la semilla, por lo que se recomienda emplear 2 redes.

Los resultados que se obtienen en la determinación del sistema óptimo de unión de las bolsas colectoras a las líneas son los siguientes:

Nº de bolsas agrupadas	Nº medio de semilla obtenida
1 bolsa	1.630±440
2 bolsas	1.850±234
3 bolsas	1.788±609
4 bolsas	1.221±387

Es más interesante atar las bolsas en grupos de 3 pues el número de semilla captada es mayor.

Conclusiones. Obtención de la semilla.

La fecha de fondeo es el factor que más influye en la intensidad de fijación. Aparentemente las fechas óptimas para el fondeo están comprendidas entre abril y junio.

La mayor cantidad y calidad de semilla se obtiene fondeando bolsas colectoras japonesas rellenas con dos redes amarillas de mejillón, atadas en grupos de tres, entre 20 y 10 metros.

El material empleado para construir los colectores, la cantidad de relleno empleado, la forma de colocar los colectores en las cuerdas, y la profundidad en la que están fondeados los colectores son factores que influyen en la cantidad de semilla que se obtiene, pero la variación mayor es la que se registra interanualmente, sobre la cual no se puede actuar directamente.

Metodología. Cultivo de la semilla.

Una vez despegada la semilla de los colectores, se debe proceder a su engorde en cestas que se cuelgan en la columna de agua. Se realizan varias experiencias con la finalidad de determinar las condiciones óptimas para el cultivo de semilla en aguas de Málaga.

Engorde en cestas en suspensión de semilla despegada en 1997.

Se parte de semilla mantenida entre septiembre de 1997 y enero de 1998 a concentraciones de aproximadamente 100 por cesta. La talla inicial es de 42,7 mm de altura.

La semilla se cultiva a tres densidades (16, 24 y 32 vieiras por cesta) y a tres profundidades (1, 5 y 10 m sobre el fondo).

Engorde en cestas en suspensión de semilla despegada en 1998.

Se parte de semilla de mayor tamaño, y se pretende cultivarla en unas condiciones óptimas para que alcance la talla legal en menos tiempo. Por lo tanto, se procede a cultivar semilla recién despegada de septiembre de 1998 (talla inicial de 23 mm) a 4 densidades (25, 50, 100 y 200 vieiras por cesta) y 4 profundidades (2, 5, 10 y 15 m sobre el fondo).

Engorde en suspensión colgada por la oreja.

Se pretende comprobar el comportamiento de la semilla colgada por la oreja. Para ello, la semilla de 1997 mantenida en condiciones de 100 vieiras/cesta es encordada en varias fechas (21 de abril, 16 de julio y 5 de noviembre) con tallas iniciales de 51,3, 58,8 y 64,3 mm.

Comparación entre vieiras salvajes y cultivadas.

El peso de la vianda de las vieiras se ajusta a las siguientes ecuaciones:

- Vieiras salvajes \Rightarrow Peso vianda (g) = $-26,01 + 0,48 * \text{Altura (mm)}$
- Vieiras cultivadas en cestas \Rightarrow Peso vianda (g) = $-29,79 + 0,57 * \text{Altura (mm)}$
- Vieiras colgadas por la oreja \Rightarrow Peso vianda (g) = $-26,44 + 0,53 * \text{Altura (mm)}$

Resultados. Cultivo de la semilla.

Engorde en cestas en suspensión de semilla despegada en 1997.

Se observa un efecto negativo de la densidad sobre el crecimiento a partir del segundo mes de cultivo. El efecto de la profundidad tarda más tiempo en manifestarse, observándose los mejores resultados a 10 m sobre el fondo (alcanzando la talla legal en febrero de 1999, 18 meses después de ser despegada).

Engorde en cestas en suspensión de semilla despegada en 1998.

El efecto de la densidad es importante pues a los dos meses de iniciado el cultivo son menores las semillas cultivadas a densidades altas. Los resultados son los siguientes:

Densidad	Talla (mm)
200 vieiras/cesta	37,7
100 vieiras/cesta	42,1
50 vieiras/cesta	48,2
25 vieiras/cesta	53,0

Desafortunadamente, todas las cestas desaparecen después del muestreo de mayo, por lo que los resultados no son concluyentes.

Engorde en suspensión colgada por la oreja.

Los resultados no son buenos debido a la fuerte fijación de *Balanus sp* sobre la concha de las vieiras. No obstante, el 73% de las vieiras encordadas en noviembre alcanzan la talla legal el 21 de abril.

Comparación entre vieiras salvajes y cultivadas.

Las vieiras cultivadas en cesta, con una talla media de 90 mm de altura y después de 17 meses de cultivo, tienen un peso medio de vianda de 21,8 g, las cultivadas por la oreja 21,4 g y las salvajes 17,3 g.

El rendimiento de las vieiras cultivadas es de 16,8% mientras que el de las salvajes es del 15,2%.

Conclusiones. Cultivo de la semilla.

En Málaga se dan las condiciones adecuadas para el preengorde de semilla en suspensión y el engorde hasta la talla comercial en tan sólo 18 meses de cultivo. Es decir, Málaga puede producir semilla para su cultivo *in situ*.

Las vieiras colgadas por la oreja muestran una tasa de crecimiento muy elevada en los primeros meses, pero a continuación las valvas son fuertemente colonizadas por escaramujos, siendo en algunos casos la colonización tan intensa que conlleva la detención del crecimiento y la posterior muerte de todos los ejemplares.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Cataluña:

- **1993:** Plan experimental de captación y engorde de pectínidos.

COMENTARIOS FINALES.

Los resultados obtenidos en relación con la obtención y preengorde de semilla de vieira, muestran que la costa de Málaga, o al menos Fuengirola, es una zona excelente para su producción.

El éxito en la obtención de semillas de vieira es importante, porque las buenas zonas de captación son escasas, por lo que Málaga puede ser productora de semilla de vieira, para su uso propio o para su venta.

La comercialización es un factor esencial en el cultivo de la vieira, siendo éste uno de los mayores problemas con el que se encuentra el desarrollo del cultivo en Málaga. Actualmente la extracción de vieiras está sometida a prohibiciones debido a la presencia de la biotoxina ASP.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

El 17 de julio de 1997 se llevó a cabo en uno de los locales del Centro Costero del IEO de Fuengirola una charla divulgativa referida al cultivo de vieiras, centrada en los resultados que se habían obtenido hasta el momento.

“Biología y Cultivo de la Vieira en Málaga” editado por la Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca.

4. PROYECTO: ESTUDIO DEL PROCESO PRODUCTIVO DE NUEVAS ESPECIES (MERO Y PARGO)

AÑO:

Comienzo del plan: 1996
Finalización del plan: 1999

OBJETIVOS:

- Primer año: Captura de meros y pargos.
- Segundo año: Aclimatación de los ejemplares.
- Tercer año: Estudios de parámetros bioquímicos relacionados con la reproducción.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Delegación Provincial de Cádiz.
Centro: CICEM "El Toruño".

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: M^a Ángeles.
Apellidos: Bruzón Gallego.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se realiza en las instalaciones del CICEM "El Toruño", y es desarrollado por el personal adscrito a este Centro.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología. Meros:

En 1997 y 1998, los reproductores de mero son capturados en el caladero "Banco del Hoyo" (Conil) con un peso variable entre 1,5 y 13,8 Kg.

Una vez llegan al Centro se transfieren a un tanque de 200 l donde son anestesiados para tomar los datos biométricos de peso y longitud. Una vez tomadas las muestras, los meros se recuperan en tanques de cuarentena donde permanecen un mínimo de 2 meses habituándose a comer doradas pequeñas vivas.

Se realiza un ensayo de adaptación de los meros a diferentes alimentos, para ello se forman diferentes lotes de mero que soportan distintas condiciones ambientales. En el siguiente cuadro se detallan los diferentes lotes de meros:

TANQUE	TIPO AGUA	SALINIDAD	SEX RATIO	FOTOPER.	T(°C)
TR-1 LOTE 1	Mezcla	Med. Var.	2:1	Natural	Constante
TR-2	Mezcla	Med. Var.	No alcanzan tamaño reproductor	Natural	Constante
TR-3 LE 2	Mezcla	Med. Var.	2:1	Natural	Constante
TR-4 LOTE 3	Mezcla	Med. Var.	1:1	Natural	Constante
TR-5 LOTE 4	Mezcla	Med. Var.	1:1	16D:8N	Constante
TR-6 LOTE 5	Mezcla	Med. Var.	1:1	8D:16N	Constante
TR-20 LOTE 6	Río	Med. Var.	2:1	Natural	Ambiente
TH-3 LOTE 7	Pozo	Constante	2:1	Natural	Ambiente

Se realiza un seguimiento del estado fisiológico del animal mediante muestras de sangre periódicas y muestras de diferentes tejidos, especialmente gonadal para el estudio de la maduración.

Metodología. Pargos:

Se capturan pargos de tamaño inferior al tamaño reproductor con el fin de mejorar la supervivencia de las capturas y conseguir una buena aclimatación a las condiciones de cautividad.

Resultados. Meros:

Se obtienen 70 meros con un peso comprendido entre 1,5 Kg y 13,80 Kg. Los lotes de reproductores se forman con ejemplares de peso superior a 4 Kg. Las experiencias de alimentación con diferentes dietas, se realiza con meros de peso inferior a 4 Kg.

Relación talla/peso.

La relación talla /peso encontrada es: $L = 43,041 \times P^{0,250}$ con $R^2 = 0,877$

Alimentación.

La experiencia tiene una duración de diez meses, los cinco primeros con diferentes tipos de dietas: chipirón, mejillón, chipirón con pienso y mejillón con pienso.

La mejor dieta es la dieta a base de chipirón con pienso, pues en cinco meses, a igualdad de pesos iniciales, los meros sometidos a ésta dieta alcanzan el mayor peso (3 Kg).

Crecimiento y época de puesta.

El 50% de los meros que no alcanzan en un principio el tamaño de reproductor, lo alcanzan aproximadamente al año.

Se constata que la época de madurez coincide con los meses de Mayo, Junio y Julio.

La época natural de puesta se produce entre los meses de Mayo y Junio.

Características hematológicas.

Las características citomorfológicas generales de los elementos de la sangre de los meros son las siguientes:

- Eritrocitos: Los eritrocitos son elementos nucleados, contienen hemoglobina y son de forma elíptica. El tamaño medio de las células es de 10 x 6 μm y el núcleo de 5 x 2 μm .
- Trombocitos: Se diferencian tres tipos de trombocitos, redondeados, fusiformes y alargados. Son simples células con un núcleo púrpura predominante. Miden 6 x 4 μm y 4 μm de diámetro, los redondeados.
- Linfocitos: Tienen un gran núcleo púrpura y un delgado citoplasma azul, con un diámetro medio de 5 μm .
- Eosinófilos: Los granulocitos eosinófilos tienen forma oval o elíptica con un núcleo oval y excéntrico. El citoplasma tiene color rosado y 5 μm de diámetro.
- Neutrófilos: Los granulocitos neutrófilos tienen forma oval o irregular con un gran núcleo. Su citoplasma es azul. Tiene un diámetro medio de 9 μm y el núcleo mide 5 μm de diámetro.
- Basófilos: Estas células tienen un núcleo muy grande teñido de azul y numerosos gránulos violetas negruzcos.
- Monocitos: Tienen un citoplasma abundante de color azul-grisáceo y un núcleo redondo o irregular con un tamaño entre 10 x 12 μm .

Estudio histológico

Se realizan cortes histológicos de gónadas femeninas en las que se observan oocitos primarios y secundarios que están en un estadio de primera vitelogénesis, sin que se observe hasta el momento un estadio más avanzado de maduración.

Análisis bioquímicos

Se realizan análisis bioquímicos de sangre durante el periodo comprendido entre junio de 1998 y enero de 2000.

Del análisis de los resultados obtenidos se desprenden las siguientes afirmaciones:

- El contenido de proteínas desciende según aumenta la talla de los meros.
- El contenido de glucosa desciende según aumenta la talla de los meros.
- El contenido de calcio desciende según aumenta la talla de los meros, llegando a alcanzar valores por debajo de los 5 mg/dl cuando los meros superan los 90 cm de talla.
- El contenido de la fosfatasa ácida desciende según aumenta la talla de los meros.

Se estudian los parámetros bioquímicos relacionados con la reproducción encontrándose diferencias significativas en los parámetros proteínas totales, fosfatasa ácida y triglicéridos, así como glucosa. En todos los parámetros los valores son más elevados en hembras que en machos.

Resultados. Pargos:

Se capturan 50 pargos con un peso comprendido entre 50 y 150 g en los caladeros de “El Bajo de León” y “El Peñascal”. Los pargos se aclimatan perfectamente.

Una vez los pargos llegan al centro experimental se colocan en tanque de cuarentenas de 10 m³, circulares, con agua procedente del río San Pedro, alimentándose con trozos de pulpo y adaptándose posteriormente a pienso.

La adaptación del pargo a una alimentación basada en chipirón y cangrejo vivo es rápida.

Conclusiones:

Gracias a los estudios de alimentación se llega a la conclusión que la mejor dieta para los meros es la que se basa en una mezcla de chipirón con pienso. Ésta dieta es la que actualmente se suministra a los reproductores.

Comienzan a aparecer machos y hembras maduros a lo largo del mes de mayo. A mediados de mes en el caso de los machos y a finales en el caso de las hembras.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Cataluña:

- **1992-95: Estudio** de la biología del mero y posibilidades de cultivo.

COMENTARIOS FINALES.

La rápida adaptación del mero a la cautividad es determinante desde el comienzo de la experiencia. La mayor dificultad se presenta en el momento de adaptación a la alimentación inerte, pero ésta se consigue de forma paulatina.

Los meros muestran un comportamiento muy sociable, acercándose a cualquier persona que se aproxima al tanque y sacando la mitad de la cabeza fuera del agua.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Se asistió al TECAM SEMINAR ON MEDITERRANEAN MARINE AQUACULTURE FINFISH SPECIES DIVERSIFICATION organizado por el Centro for Advanced Mediterranean Agronomic Studies formado por el Mediterranean Institut of Zaragoza y la FAO_Fisheries Departament con la presentación del trabajo "Effects of culture conditions on growth and physiology on groupers *Epinephelus marginatus*".

5. PROYECTO: LA VIABILIDAD DEL CULTIVO EN ESTEROS. EL DESARROLLO DE LA ACUICULTURA RENTABLE Y COMPATIBLE CON EL MEDIO NATURAL.

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

- 1- Estudiar al consumidor acerca de la diferenciación de productos acuícolas de estero frente a los de cultivo intensivo.
- 2- Valorar de costes de producción de las distintas alternativas, a fin de orientar a las empresas sobre su oportunidad y ejecución.
- 3- Analizar la rentabilidad de las distintas alternativas.
- 4- Disponer de elementos de valoración y control que permitan medir y juzgar la situación de las empresas, para formular la estrategia empresarial.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Málaga.

Centro: Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales.

Departamento: Economía y Administración de Empresas.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Antonio.

Apellidos: Ruiz Molina.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El presente proyecto se realiza en el departamento de Economía y Administración de Empresas de la Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales de la Universidad de Málaga.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

En primer lugar, se realiza un estudio del comportamiento del consumidor acerca de la diferenciación de productos acuícolas de estero frente a los de cultivo intensivo. El comportamiento del consumidor se valorará a través de sondeos a los consumidores para saber el grado de aceptación que tiene la dorada de estero.

A partir de esta información se esta en condiciones de apoyar la decisión de las empresas acerca del tipo de producto que los consumidores valoran en cada momento. Simultáneamente se aborda el conocimiento de la demanda de los consumidores en cuanto al logro de una mayor especificación de sus necesidades, que posteriormente se trasladara a la empresa para su estudio, valoración y respuesta oportuna.

Con la información obtenida se está en condiciones de valorar el potencial del mercado de productos de estero y el precio asociado a cada presentación. Con la información que se obtenga, se avanzará en la formulación de modelos de comportamiento del consumidor.

Una vez recogida y validada la información, se puede desarrollar el oportuno estudio de viabilidad empresarial con el que podrán formularse estrategias empresariales más adecuadas según la información obtenida.

En definitiva, se obtendrá un conjunto de datos económicos que permitirán apoyar las decisiones de las empresas en su intento de acercar el producto con mayor calidad a los consumidores finales.

Dichos costes se compararán con los datos del estudio de mercados obtenidos y se podrá conocer la viabilidad de cada decisión.

Con la información disponible se podrá, finalmente, orientar a las empresas en el sentido más adecuado según la información disponible.

Resultados:

Se elabora un informe acerca de los pasos a seguir cuando se quiera montar una empresa acuícola y los pasos a seguir a la hora de evaluar un proyecto acuícola (estudio de viabilidad).

Conclusiones:

Siguiendo los pasos que se enumeran en el informe presentado como resultados de la propuesta de este proyecto se puede llegar a la conclusión de si es o no conveniente realizar la inversión en una empresa acuícola.

COMENTARIOS FINALES.

El informe presentado no se corresponde mucho con los objetivos y la metodología definidos en la propuesta. No se elabora un estudio del consumidor acerca de sus preferencias en los productos acuícolas, no se valoran los costes de producción de las diferentes alternativas a la hora de poner en marcha una empresa acuícola ni se realiza una valoración de rentabilidad de las diferentes alternativas.

6. PROYECTO: ELABORACIÓN DE UN MAPA ZOOSANITARIO DE PATOLOGÍAS QUE AFECTAN AL CULTIVO DE DORADAS (*Sparus aurata*) EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA ANDALUZA.

AÑO:

Comienzo del plan: 1997
Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

Como objetivo general de este proyecto se plantea la elaboración de un mapa zoosanitario para las poblaciones de dorada cultivadas en la Comunidad Autónoma Andaluza. Este mapa aportará información sobre agentes patógenos de importancia en esta área, facilitando la adopción de medidas de carácter terapéutico conducentes al control de los brotes epizooticos.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Málaga.
Centro: Facultad de Ciencias.
Departamento: Microbiología.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Juan José.
Apellidos: Borrego García.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La recolección de muestras de dorada se realiza en diferentes empresas de acuicultura localizadas en las provincias de Málaga, Granada, Cádiz y Huelva.

Para la realización de los estudios y análisis pertinentes se contará con los medios y las instalaciones del Departamento de Microbiología de la Universidad de Málaga.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Las doradas enfermas se recolectan en diferentes empresas de acuicultura localizadas en las provincias de Málaga, Granada, Cádiz y Huelva. Una vez en el laboratorio se anestesian y se toman muestras de los órganos internos (riñón, hígado, bazo) y de aquellos otros órganos o tejidos afectados.

Se realizan dos tipos de análisis, bacteriológicos y virológicos para la determinación de posibles patologías de origen bacteriano o vírico que afectan a dichos cultivos.

Resultados:

Las sintomatologías observadas en los especímenes de doradas analizados en el presente estudio incluyen úlceras, hemorragias externas, exoftalmia, hemorragias oculares, pigmentación oscura, descamación, hinchazón abdominal y nódulos blanquecinos de aspecto tumoral en la piel y en las aletas, con la típica apariencia de la enfermedad de linfocistis. A nivel interno, se observan hígados hemorrágicos, riñones pálidos, tubérculos en bazo y esplenomegalia. Generalmente, los especímenes afectados presentan un retraso en su crecimiento.

En los análisis bacteriológicos realizados se aíslan y caracterizan 208 cepas bacterianas. La mayoría de los aislados corresponden a bacterias Gram negativas (93,3%). Las cepas patogénicas más frecuentemente aisladas pertenecen al género *Vibrio* (67,8%), mientras que se aíslan de forma esporádica cepas identificadas como *Pseudomonas sp.* (13,5%), *P. damsela* subsp. *piscidia* (6,7%), bacterias pertenecientes al grupo *Cytophaga-Flexibacter* (4,8%) y *Aeromonas sp.* (0,5%). Por otra parte se aíslan algunas bacterias Gram positivas (6,7% de los aislados), incluyendo *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Streptococcus sp.* y bacilos Gram positivos.

Los resultados de los análisis virológicos son negativos en todos los casos, con la salvedad de los peces sospechosos de padecer linfocistis. En estos casos es posible demostrar la presencia de virus en muestras de nódulos de piel y/o aletas mediante aparición de efectos citopáticos en la línea celular SAF-1 a los 2-10 días post-inoculación. Estos efectos citopáticos consisten en el redondeamiento y agrandamiento de las células infectadas y en la aparición de inclusiones citoplasmáticas.

Se aíslan seis cepas FLDV a partir de las monocapas celulares de SAF-1 que muestran los efectos citopáticos anteriormente mencionados.

Todas las cepas de FLDV muestran similares características morfológicas cuando se examinan a microscopía electrónica de transmisión (TEM), apareciendo como viriones isométricos con un diámetro de aproximadamente 100 nm. Del mismo modo, todas las cepas aisladas conservan su infectividad (que oscila entre 10^4 TCID₅₀/ml y 10^9 TCID₅₀/ml) en la línea SAF-1 tras tratamiento con cloroformo.

El grado de infectividad mostrado por los diferentes aislados de FLDV oscila entre 1×10^4 TCID₅₀/ml y 1×10^{10} TCID₅₀/ml.

Conclusiones:

Se han caracterizado los agentes patógenos presentes en las doradas andaluzas, con lo cual una vez conocidas se tienen que definir líneas de actuación para poder prevenirlas o curarlas si es necesario.

COMENTARIOS FINALES.

Las patologías de origen infeccioso representan una de las principales causas de limitación de los cultivos piscícolas, y sin duda el que ocasiona mayores pérdidas económicas. Por esto, es necesario, una vez detectadas las patologías que afectan a las doradas seguir realizando estudio sobre factores moleculares implicados en la patogeneidad de microorganismos bacterianos involucrados en brotes epizooticos de poblaciones piscícolas cultivadas, sobre diseño de métodos profilácticos contra los principales microorganismos patógenos de dorada, etc.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Publicación realizada por la Viceconsejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía con el nombre "Patologías que afectan al cultivo de dorada (*Sparus aurata*) en la Comunidad Andaluza".

7. PROYECTO: EVALUACIÓN A ESCALA PILOTO DE UNA DIETA INERTE MICROENCAPSULADA PARA EL CULTIVO LARVARIO DE PECES MARINOS (DORADA Y LENGUADO) DESDE LA PRIMERA SEMANA DE VIDA HASTA EL USO DE PIENSOS COMERCIALES.

AÑO:

Comienzo del plan: 1997
Finalización del plan: 1999

OBJETIVOS:

- Examinar si el uso de dietas microencapsuladas permite el destete de dorada con eliminación de la mayor parte de presas vivas, y especialmente de la *Artemia*.
- Comprender el proceso de metamorfosis en el lenguado de cultivo, por sus implicaciones en la alimentación.
- Examinar si el uso simultáneo de alimento vivo y dietas microencapsuladas durante la etapa larvaria puede favorecer el posterior destete de los lenguados. Comprobar el uso de dietas mixtas en el adelanto del cambio a dietas comerciales.
- Adecuar al sistema de fabricación de microdietas la incorporación efectiva de enzimas y evaluar su estabilidad en microcápsulas de pared proteínica y comprobar si la incorporación de enzimas en el alimento microparticulado modifica la actividad enzimática de las larvas.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
Centro: Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía.
Departamento: Biología Marina y Recursos Pesqueros.

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
Centro: C.I.C.E.M. "El Toruño"

COORDINADOR DEL PLAN PROCEDENTE DEL ICMAN-CSIC:

Nombre: Manuel.
Apellidos: Yúfera Ginés.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Jose Pedro.
Apellidos: Cañavate Hors.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se realiza en las instalaciones del CICEM “El Toruño”.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Año 1997: “Evaluación a escala piloto de una dieta inerte microencapsulada para el cultivo larvario de peces marinos (dorada y lenguado) desde la primera semana de vida hasta el uso de piensos comerciales”.

Metodología. Destete de larvas de dorada con microdietas:

Las microcápsulas se han elaborado mediante la técnica de la polimerización de la proteína de la dieta. Estas partículas tienen un tamaño y valor calórico similar al que presentan los rotíferos.

Se ensayan tres tipos de alimentación:

- 1- Tratamiento control, en el que las larvas se alimentan exclusivamente con alimento vivo.
- 2- Dieta inerte desde el día 8 con adición de una pequeña cantidad de rotíferos.
- 3- Dieta inerte exclusivamente a partir del día 8.

Para obtener una mejor comparación dentro del mismo periodo de edad, se expresan, por una parte, los crecimientos obtenidos hasta el día 40 en una primera fase. Posteriormente, se muestra el crecimiento completo hasta la finalización del experimento.

Resultados. Destete de larvas de dorada con microdietas:

Considerando el periodo desde el día 8 hasta el día 40 desde la eclosión, se observa un buen resultado en el crecimiento de las larvas alimentadas con la dieta inerte y una presencia testimonial de presas vivas. Su tasa de crecimiento es buena, $G=7,5\%$, comparable al $7,8\%$ diario obtenido en el control. El crecimiento de larvas alimentadas únicamente con dietas inertes, es bueno únicamente durante las dos primeras semanas del cambio a alimento microencapsulado. Posteriormente se incrementa la mortalidad y finalmente éstas larvas desaparecen hacia el día 35.

A partir del segundo mes de experimentación únicamente se ha continuado con las larvas del tratamiento B. Éstas larvas, completamente adaptadas al pienso comercial y alimentándose exclusivamente con este tipo de alimento, obtienen un crecimiento bueno y paralelo al del control, manteniendo una tasa de crecimiento del 7% diario de peso seco. El aspecto de éstas larvas al final del tercer mes de vida, es excelente, mostrando una tasa de inflado de vejiga natatoria de prácticamente el 100%, e iniciándose la transformación a juvenil.

Conclusiones. Destete de larvas de dorada con microdietas:

Las limitaciones nutricionales en las larvas de dorada aparecen a partir de la tercera semana de vida, siendo el crecimiento en este periodo de aproximadamente la mitad cuando se cambia de alimento vivo al inerte.

La formulación de la dieta precisa aún de complementarse con determinados factores nutricionales (aminoácidos libres, vitaminas, etc), como se deduce de los resultados en ausencia total de presa viva.

El hecho más destacable de los resultados obtenidos es que, por primera vez, el cultivo de una población de dorada desde el inicio de la alimentación hasta su fase juvenil se realiza casi exclusivamente con alimento artificial, lográndose unos crecimientos y supervivencias comparables a las obtenidas con dietas vivas.

Metodología. Estudio de la metamorfosis en el lenguado:

La metamorfosis en peces planos se caracteriza por una drástica transformación anatómica y fisiológica. Esta transformación suele comenzar a partir de la segunda semana de vida. La metamorfosis, supone un cambio de hábitat y costumbres que conlleva un cambio en los hábitos alimentarios, lo que tiene una clara repercusión en el diseño de una dieta en esta etapa.

Se examina la edad y la talla larvaria en los diferentes estadios de transformación según la base de la posición del ojo en diferentes condiciones de alimentación, estableciéndose la duración del proceso.

Se ensayan 4 regímenes alimentarios con objeto de obtener diferentes crecimientos larvarios:

Densidad de presa elevada (régimen A): 4 nauplios ml⁻¹ de *Artemia*.

Densidad de presa habitual (régimen B): 2 nauplios ml⁻¹ de *Artemia*.

Dieta mixta viva (*Artemia*) e inerte (microcápsulas) (régimen C): 2 nauplios ml⁻¹ y 3 mg/ml.

Dieta inerte (microcápsulas) (**régimen D**): 3,7 mg/ml.

En todos los casos los cultivos se realizan en tanques de 300 litros con flujo continuo de agua a 20°C de temperatura, y durante los tres primeros días de vida se alimentan con rotíferos.

Resultados. Estudio de la metamorfosis en el lenguado:

Los diferentes regímenes alimenticios ofrecidos en este estudio han dado lugar a diferentes tasas de crecimiento durante la fase larvaria. La tasa de crecimiento más elevada durante la fase larvaria (desde el inicio de la alimentación hasta el comienzo de la migración del ojo) se ha obtenido con el régimen A y la tasa más baja con el régimen D, mostrando los regímenes B y C tasas intermedias. Posteriormente, las tasas de crecimiento descienden de forma significativa y han sido similares en los tratamientos con presencia de presas vivas (regímenes A, B y C), oscilando entre el 14 y el 16% diario. Las larvas alimentadas con la dieta D, han mostrado un crecimiento prácticamente nulo en esta fase (2,6% diario).

En la siguiente tabla se muestra los valores medios de longitud total y edad en el lenguado al comienzo y al final de la metamorfosis.

Régimen alimentario	A	B	C	D
50% iniciado				
edad	9,40	12,50	11,18	15,17
longitud	5,90	5,67	5,64	5,58
50% finalizado				
edad	13,81	18,69	16,48	27,69
longitud	8,67	8,58	8,55	7,26
95% finalizado				
edad	16,37	22,38	18,56	43,91
longitud	9,57	9,34	9,36	7,90

La supervivencia final del experimento ha sido superior al 70% en los regímenes A, B y C, mientras que en el régimen D la supervivencia ha sido del 30% al día 25 y del 5% al día 37.

La migración del ojo comienza cuando las larvas alcanzan individualmente una longitud de 4,5 a 5,0 mm y la completan por encima de los 8,0 mm, exceptuando las larvas del régimen D que completan la metamorfosis con sólo 6,5 mm.

Conclusiones. Estudio de la metamorfosis en el lenguado:

Las larvas alimentadas con diferentes cantidades de presas vivas, muestran un crecimiento y una supervivencia excelentes, mientras que las larvas que únicamente son alimentadas con microcápsulas presentan un crecimiento y una supervivencia por debajo de lo normal, lo que indica que la dieta con microcápsula presenta deficiencias nutricionales.

Durante la metamorfosis, el crecimiento en poblaciones alimentadas sin limitaciones nutricionales (dietas A, B y C) ha sido muy similar, lo que indica que una mayor disponibilidad de presas no significa necesariamente una mayor tasa de desarrollo.

La longitud larvaria es relativamente constante y menos variable que la edad de inicio de la metamorfosis (variable entre 9 y 15 días). Los cambios morfológicos ocurren en paralelo con cambios de comportamiento y fisiológicos, con independencia del tiempo requerido para alcanzar un determinado estadio. La edad a la que se produce la metamorfosis depende de las condiciones ambientales, principalmente de la temperatura del agua y de la calidad y cantidad de alimento suministrado.

Año 1998: “Desarrollo del cultivo intensivo de larvas y alevines de lenguado de estero (*Solea senegalensis*) utilizando microdietas inertes”.

Metodología. Crecimiento de larvas de lenguado con microdietas:

Los ensayos de crecimiento obtenidos en el año 97, muestran la capacidad de las larvas de lenguado de capturar e ingerir alimento inerte desde edades muy tempranas, si bien, éste tipo de alimentación no es aún satisfactorio para el normal desarrollo de los primeros estadios en esta especie.

Teniendo en cuenta lo dicho anteriormente, se ha ensayado la introducción de dietas microencapsuladas una vez iniciada la metamorfosis. Así pues, desde el día 2 hasta el día 13, las larvas han sido alimentadas con rotíferos y nauplios de *Artemia*, suministrándose posteriormente una dieta microencapsulada.

Resultados. Crecimiento de larvas de lenguado con microdietas:

La tasa de crecimiento de la población control (alimentada con nauplios de *Artemia*) ha sido del 15% diario en peso, mientras que la tasa de crecimiento de la población alimentada exclusivamente con microcápsulas ha sido del 5,5%.

La supervivencia con la dieta inerte en esta fase ha sido del 60% frente al 100% que se obtiene en la población control.

El grado de desarrollo y estado de salud que alcanzan los juveniles alimentados con alimento inerte es adecuado.

Conclusiones. Crecimiento de larvas de lenguado con microdietas:

En vista de los resultados obtenidos se llega a la conclusión de que en el lenguado se puede realizar el cambio a alimentación inerte a edades relativamente tempranas.

Los resultados de crecimiento y de supervivencia de las poblaciones alimentadas con dietas microencapsuladas son aceptables, por lo que se sugiere continuar avanzando en el desarrollo de dietas inertes para la fase larvaria y postlarvaria de esta especie.

Metodología. Efecto de la dieta inerte durante el desarrollo larvario:

Se estudia el efecto que produce en la alimentación el uso de alimentos inertes y vivos durante la etapa larvaria y su influencia en el posterior destete.

Se utilizan piensos microparticulados como complemento de rotíferos y nauplios de *Artemia*.

Se emplean cinco regímenes alimentarios para evaluar el efecto de la alimentación larvaria en el posterior destete. Cada régimen alimentario fue llevado a cabo en dos tanques replicados, excepto el tratamiento L100, en el que se utilizaron cuatro réplicas.

En los siguientes cuadros se muestran las composiciones de los diferentes regímenes.

Régimen alimentario L100 (ración completa de presas vivas)				
Alim/días	Alga (*10⁶cel ml⁻¹)	Rotífero (ind ml⁻¹)	Artemia (naupl ml⁻¹)	Pienso (mg ml⁻¹)
3-9	0,3	20	-	-
7-14	-	-	8	-
15-22	-	-	12	-
23-43	-	-	7*	-

Régimen alimentario L100I50 (ración completa de presas vivas y alimento inerte media ración)				
Alim/días	Alga (*10⁶cel ml⁻¹)	Rotífero (ind ml⁻¹)	Artemia (naupl ml⁻¹)	Pienso (mg ml⁻¹)
3-9	0,3	20	-	2,5
7-14	-	-	8	6,5
15-22	-	-	12	8,5
23-43	-	-	7*	6

Régimen alimentario L50 (media ración de presas vivas)				
Alim/días	Alga (*10⁶cel ml⁻¹)	Rotífero (ind ml⁻¹)	Artemia (naupl ml⁻¹)	Pienso (mg ml⁻¹)
3-9	0,3	10	-	-
7-14	-	-	4	-
15-22	-	-	5	-
23-43	-	-	3,5*	-

Régimen alimentario L50I50 (media ración de presas vivas y alimento inerte media ración)				
Alim/días	Alga (*10⁶cel ml⁻¹)	Rotífero (ind ml⁻¹)	Artemia (naupl ml⁻¹)	Pienso (mg ml⁻¹)
3-9	0,3	10	-	2,5
7-14	-	-	4	6,5
15-22	-	-	6	8,5
23-43	-	-	3,5*	6

Régimen alimentario I100 (ración completa de alimento inerte)				
Alim/días	Alga (*10⁶cel ml⁻¹)	Rotífero (ind ml⁻¹)	Artemia (naupl ml⁻¹)	Pienso (mg ml⁻¹)
3-9	-	-	-	5
7-14	-	-	-	13
15-22	-	-	-	17
23-43	-	-	-	-

Después de la metamorfosis, los peces se reestabulan, en tanques de 1 y 7 m², a una densidad de 3000 ind/m² y el nivel de agua se reduce de 70 a 30 cm.

El destete comienza el día 45 del cultivo y durante los 7 días siguientes se suministran de forma conjunta alimentos vivos e inertes. La cantidad de alimento inerte se incrementa desde 7 mg/l (día 43) hasta 25 mg/l (día 70).

Cuatro tanques procedentes de la dieta L100 se mantienen como testigos con alimento vivo, suministrándoles cantidades diarias de alimento vivo que varían desde los 3.500 nauplios por individuo del día 43, hasta los 7.000 nauplios por individuo del día 70.

Al resto de los tanques se les suministra sólo alimento inerte desde el día 50 hasta el final del experimento.

Resultados. Efecto de la dieta inerte durante el desarrollo larvario:

En el periodo comprendido entre el inicio de la alimentación exógena y el final de la metamorfosis, la adición de dieta inerte no afecta al crecimiento larvario del lenguado. Excepto en las larvas en las que se aplica el tratamiento I100, en donde tanto la tasa de crecimiento como la supervivencia fueron muy bajas, en el resto de los tratamientos las tasas de crecimiento y la supervivencia han sido muy similares.

El día 50 de cultivo, se retira el alimento vivo produciéndose diferencias significativas en crecimiento y supervivencia en función de los tratamientos seguidos durante la etapa larvaria:

- Larvas alimentadas con dieta viva desde el día 3 hasta el día 43, L100 y L50, no presentan supervivencia alguna el día 60.
- Larvas alimentadas con la dieta L50I50, presentan una tasa de crecimiento similar a las que permanecieron con *Artemia*, obteniéndose pesos secos similares (27,92±6,8 y 34,03±7,3 mg respectivamente) al final del experimento (día 70) entre estas dos dietas.
- La supervivencia es inferior en los tanques en los que se obtuvo destete (39%±4,2 para la dieta L100I50 y 34%±11,3 para la dieta L50I50) en comparación a la registrada para los peces que permanecieron todo el tiempo con alimento vivo (78,5%±5).
- Las larvas alimentadas con la dieta L100I50 presentan una tasa de crecimiento durante el destete (días 43 a 70) inferior a la encontrada para las larvas que fueron alimentadas con la dieta L50I50.
- La supervivencia después del destete ha sido similar entre los diferentes tratamientos de coalimentación larvaria.

Conclusiones. Efecto de la dieta inerte durante el desarrollo larvario:

Es viable realizar el cambio a alimentaciones inertes en el lenguado con edades relativamente tempranas, obteniéndose crecimientos muy cercanos a los de referencia. Para ello, es necesario utilizar dietas larvarias inertes de manera complementaria desde el inicio de la alimentación exógena.

Año 1999: “Incorporación de probióticos a la microdieta para larvas de peces marinos”.

Metodología.:

Para los experimentos de suplementación con enzimas se han seleccionado 3 fuentes de proteasas diferentes:

- Pancreatina bovina (PT).
- Tripsina de bacalao (TB).
- Extracto semipurificado de intestinos de dorada (ESID).

Se elaboran las microcápsulas mediante el método de polimerización de las proteínas de la dieta, tratando de incluir las diferentes enzimas en proporción similar atendiendo a su actividad.

Se realizan ensayos *in vitro* para evaluar:

- 1- La actividad proteasa retenida en las cápsulas.
- 2- El porcentaje de actividad inicial retenida por las cápsulas después de la rehidratación durante 2 horas en agua de mar.

Posteriormente se realizan los ensayos *in vivo* para evaluar:

- 1- El crecimiento y la supervivencia de larvas alimentadas con los distintos tipos de microcápsulas.
- 2- La actividad proteasa total que presentan las larvas de cada grupo.

Para los experimentos *in vivo* con larvas de dorada, se realizan cultivos en tanques de 300 l, con circuito abierto de agua desde el día 8. El alimento microencapsulado se añadió cuando las larvas tenían 8 días. Se realizan 4 tratamientos:

- A- Control con presas vivas.
- B- Larvas alimentadas con dieta microencapsulada + pancreatina bovina.
- C- Larvas alimentadas con dietas microencapsuladas + tripsina de bacalao.
- D- Larvas alimentadas con dietas microencapsuladas + extracto enzimático de intestino de dorada.

Únicamente se han podido realizar experimentos preliminares con lenguados. Estos experimentos han consistido en ajustar la cantidad de alimento inerte que hay que suministrar diariamente para optimizar el crecimiento en la medida de lo posible. Con ello se pretende descartar que una insuficiente alimentación sea la causa de potenciales resultados negativos durante la experimentación. Para comprobar cuando una dosis puede ser limitante se han ensayado diferentes cantidades diarias de dieta microencapsulada: A) 0 mg/l, B) 7 mg/l, C) 14 mg/l y D) 28 mg/l.

Resultados:

Se ha comprobado que la proporción entre las actividades de ESID, PT y TB es de 1:4:5, es decir, para un mismo peso de sustancia, la TB tiene 5 veces más actividad que la ESID y la PT, 4 veces más.

El rendimiento de valoración de la actividad enzimática ha sido diferente en los 3 casos, comprobándose que tampoco todas las microcápsulas contienen la misma cantidad de proteína soluble.

Los análisis realizados para evaluar la pérdida de actividad enzimática por lavado tras la rehidratación han demostrado que las cápsulas son capaces de retener los enzimas y mantener su actividad. Dos horas de permanencia de las cápsulas en la columna de agua son suficientes para ser ingeridas por las larvas. Estos resultados muestran la validez de este tipo de microencapsulado para la vehiculación de enzimas en la dieta.

Tanto en los crecimientos larvarios, como en los estados de desarrollo obtenidos con microdietas con y sin suplemento de enzimas, no se registran diferencias apreciables.

La mayor actividad enzimática se obtiene en las larvas alimentadas con suplemento de enzimas y, especialmente, en aquellas que se incluían enzimas de peces.

Los valores al noveno día oscilan entre 6 y 8 unidades por mg (U/mg) de peso en todos los casos, frente a 5 U/mg en las larvas que recibieron pancreatina y menos de 4 U/mg en las que no recibieron suplemento de enzimas en la dieta.

En cuanto a la dosificación de la dieta para las larvas de lenguado, hasta la última semana, las larvas que presentan un mayor crecimiento así como un estado de desarrollo más avanzado han sido las que estaban alimentadas con la ración más elevada. En el siguiente cuadro se muestran los valores de supervivencia y biomasa total obtenida a los días 18 y 30 con diferentes dosis de dieta inerte en doradas.

Dieta	Supervivencia (%)		Biomasa total (mg)	
	18 D	30D	18 D	30 D
A	100	37	63	28
B	100	68	71	82
C	100	60	78	85
D	100	15	84	23

Conclusiones. Suplementación de enzimas en las microdietas:

En todos los casos en que las larvas son alimentadas con microcápsulas, se muestra una caída de la actividad enzimática el día 6 debido a que, cuando el día 4 se abre la boca, todavía se detectan enzimas procedentes de la reabsorción del saco vitelino y movilización de proteínas para la construcción de tejidos.

Los enzimas digestivos comienzan a aparecer con el estímulo de la ingestión, aunque parece que, en el caso de ingestión de rotíferos, la estimulación e inicio de la actividad enzimática gástrica es inmediata, Mientras, con dietas preparadas la aparición de actividad enzimática lleva más tiempo, detectándose con claridad a partir del día 9, es decir, 5 días después del inicio de la ingestión.

La ración diaria apropiada durante la fase pelágica en larvas de lenguado oscila entre 6 y 10 mg de dieta microencapsulada por . A la vista de los resultados, se comprueba que las cápsulas pueden incluir y aportar enzimas digestivas a las larvas.

COMENTARIOS FINALES.

Las larvas de dorada se pueden cultivar hasta el uso de piensos comerciales utilizando dietas microencapsuladas desde el día 8. También se precisa de la adición de una pequeña porción de rotíferos, pero se demuestra que es factible suprimir la *Artemia* durante la fase larvaria.

La temporización del proceso de metamorfosis del lenguado depende en gran medida de la ración de alimento, demostrándose que las actuales dietas inertes no son válidas en esta fase.

Después del inicio de la metamorfosis, el cambio a dietas inertes microencapsuladas permite continuar el crecimiento de las postlarvas, al menos hasta el mes de vida.

La utilización de alimentación mixta durante la fase larvaria favorece de forma significativa el destete con piensos comerciales a edades relativamente tempranas.

Es factible prescindir total o parcialmente de los nauplios de *Artemia* en el cultivo de larvas y juveniles de lenguado aunque con crecimientos y supervivencias inferiores.

Los enzimas digestivos tanto de mamíferos como de peces pueden ser microencapsulados en una matriz proteica mediante polimerización de proteína, manteniendo su actividad.

Las larvas que reciben enzimas como suplemento de la dieta presentan una actividad enzimática más elevada que las que carecieron de este suplemento durante los primeros días de alimentación. Con los enzimas específicos de peces se obtuvieron mejores resultados que con la pancreatina bovina en cuanto a la inducción de la actividad enzimática.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

"Evaluación de dietas inertes microencapsuladas para el cultivo larvario de peces marinos (Dorada y Lenguado)", publicación realizada por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

"Influence of cofeeding larval with live and inert diets on weaning the sole, *Solea senegalensis*, into commercial dry feeds", artículo de Cañavate, J.P. y Fernández - Díaz, publicado en el número 174 de la revista Aquaculture.

"A highly efficient microencapsulated food for pearing early larvae of marine fish" artículo de Yufera, M., Pascual, E. y Fernández - Díaz, publicado en el número 177 de la revista Aquaculture.

"Growth and physiological changes during metamorphosis of Senegal sole seased in the laboratory", artículo de Fernández - Díaz, C., Yufera, M., Cañavate, J.P., Moyano, F.J., Alarcón, F.J., y Díaz, M. Publicado en el año 2001 en la revista Journal of fish Biology.

8. PROYECTO: ANÁLISIS ECONÓMICO – FINANCIERO DE LAS EMPRESAS ACUÍCOLAS DE ANDALUCÍA. INDICADORES DE GESTIÓN

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

Alcanzar un conocimiento descriptivo y explicativo de la realidad económico – financiera de las empresas del sector acuícola, analizando, mediante los estudios estadísticos pertinentes, las interrelaciones entre las variables, dependencias y sensibilidad.

Poner a disposición de las empresas del sector un instrumento de valoración y control, como el Conjunto de Indicadores de Gestión que les permita medir y juzgar su situación en relación con las demás empresas del sector.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Málaga.

Centro: Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales.

Departamento: Economía y Administración de Empresas

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Antonio.

Apellidos: Ruiz Molina.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El estudio se realiza en el departamento de Economía y Administración de Empresas de la Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales de la Universidad de Málaga.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

El presente estudio consta de tres partes:

1. Obtención de datos económico – financieros.

Las fuentes de información básicas que se utilizan en esta fase son:

- Balances y Cuentas de Resultados de las empresas acuícolas.
- Las memorias sobre servicio de agua realizadas por dichas empresas.
- Dirección General de Pesca de la Junta de Andalucía.
- Información básica disponible en este sentido en las distintas empresas.
- Petición directa de información no recogida en los apartados anteriores, que sea de utilidad para los fines propuestos.

La obtención de datos se realizara mediante encuestas por correo y teléfono en primer término, para pasar posteriormente si fuese necesario a complementarlas o suplirlas con entrevistas personales.

2. Análisis de la información.

El análisis de la información se realiza mediante una metodología inductiva apoyada en técnicas estadísticas y de investigación de operaciones.

3. Diseño de un programa informático.

Se recurre a la siguiente información:

- Encuestas a los directores de las empresas acuícolas.
- Análisis de la información obtenida en las fases anteriores.

Resultados:

Para analizar el análisis económico financiero, se efectúa un estudio empírico cuyo objeto de investigación son todas las empresas que desarrollan como actividad principal el cultivo de recursos hidrobiológicos con fines comerciales hacia terceros y cuya producción se realiza de forma regular. Debido a las diferencias de tamaño, la población se divide en tres estratos según volumen de la cifra de negocio: grandes (>200 millones de pesetas), medianas (<200 y >50 millones de pesetas) y pequeñas (<50 millones de pesetas). Las empresas pequeñas son excluidas del análisis pues parte de las mismas no cumplen los requisitos establecidos.

La población total de 54 empresas se reduce a una población objetivo de 13. De éstas, se selecciona una muestra de 7 empresas acuícolas (2 grandes y 5 medianas) que desarrollan como actividad principal el cultivo de dorada y que en su conjunto representan el 72,8% del volumen de negocio generado por la acuicultura en Andalucía.

La información económica – financiera (balance, memoria y cuenta de pérdidas y ganancias) de estas empresas, es analizada para el periodo 1995-1997.

Los análisis efectuados corresponden a un estudio del balance y un estudio de ratios donde se evalúan 24 ratios económico – financieros, agrupados en cinco categorías: actividad, estructura, cobertura y liquidez, rentabilidad y producción.

Análisis de balances

La partida más importante en el activo son las inmovilizaciones materiales que suponen algo más de la mitad del activo. Esta cifra habla de la cuantiosa inversión que supone la infraestructura de las instalaciones de cultivo.

En el pasivo, el capital suscrito entre 1995-1997 supone entre el 76,27 y 85,58% respectivamente. Descontando los resultados negativos de ejercicios anteriores, los fondos propios en este período fluctúan entre un 47 y 52%, evidenciando empresas fuertemente capitalizadas.

En el análisis dinámico, no se observan cambios significativos en las masas patrimoniales de las empresas analizadas, tal homogeneidad, refleja un estancamiento en el crecimiento del sector.

En un análisis más detenido, se detectan diferencias significativas entre las diversas masas patrimoniales de acuerdo con el tamaño de las empresas. Una de estas diferencias se presenta en el inmovilizado, pues su origen proviene de la disparidad en las proporciones del inmovilizado material, que en las empresas grandes es mayor (78.02%), marcando una importante diferencia con las medianas (45.10%). El activo circulante también presenta diferencias que se explican a través de las existencias y la tesorería. Las diferencias encontradas en el pasivo muestran una mayor proporción de subvenciones en las empresas medianas.

Análisis de ratios

El análisis dinámico de los ratios, no muestra cambios importantes en los indicadores analizados entre 1995-1997. En base a estos resultados, es posible establecer los ratios medios que reflejan una visión del sector en su conjunto.

No obstante, en un estudio más detenido, los ratios medios son analizados en función del tamaño de la empresa con el objeto de obtener perfiles más representativos de la situación económica financiera del sector a nivel interno. En este análisis, se detectan diferencias en dos grupos de ratios: estructura y cobertura-liquidez, como producto de las diferencias encontradas en las masas patrimoniales analizadas anteriormente en el balance.

Con la obtención de los datos económico – financieros y tras un análisis de dichos datos, se procede a construir un programa informático que vincula los indicadores más relevantes que permiten un adecuado control de la gestión de las empresas acuícolas y la información disponible de dichas empresas.

Conclusiones:

Análisis de balances

Se puede decir que las proporciones de los grupos patrimoniales de las empresas acuícolas, presentan una relativa semejanza al equilibrio del balance tipo de una empresa industrial, caracterizado por una elevada proporción de activo fijo y, por consiguiente, el acceso a financiación a largo plazo.

Un análisis más detallado de los balances refleja diferencias importantes debido a la configuración de la cadena de valor que poseen tanto las empresas medianas como las grandes.

Análisis de ratios

El ratio de actividad indica que las ventas han aumentado, sin embargo no se ha logrado la importancia económica deseada, puesto que la rentabilidad de las empresas es prácticamente nula, más aún cuando se habla de empresas medianas. Empresas con mayor activo presentan un mayor porcentaje de ventas.

Diferenciando según el tamaño de la empresa, se observa una excesiva capitalización por parte de las empresas grandes y un relativo equilibrio en las medianas.

El análisis de los ratios a nivel económico – financiero pone de manifiesto que la actividad acuícola no está generando los resultados deseables, que permitan a las empresas del sector ser competitivas frente a otros sectores productivos.

COMENTARIOS FINALES.

El análisis económico – financiero de las empresas acuícolas de Andalucía, muestra que dichas empresas no son del todo rentables, siendo esta afirmación más contundente si se diferencian las empresas grandes de las medianas y pequeñas (estas dos últimas no muy rentables). La aplicación informática que se hace a raíz de la recogida de datos es una herramienta de trabajo muy útil pues en ella se seleccionan los indicadores más relevantes que permiten un adecuado control de la gestión de las empresas acuícolas en Andalucía.

9. PROYECTO: DESARROLLO DE UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA *Perkinsus atlanticus*.

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1999

OBJETIVOS:

El objetivo general es desarrollar un método rápido, sensible y no destructivo para el diagnóstico de *Perkinsus atlanticus*, principal parásito conocido en almejas tanto cultivadas como de poblaciones naturales.

Los objetivos específicos son:

1- Desarrollo de un método para el diagnóstico de *Perkinsus atlanticus* mediante amplificación de su ADN por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando *primers* específicamente diseñados para el parásito.

2- Validación del método: evaluación de su sensibilidad y su aplicación a la detección de *Perkinsus* en diferentes huéspedes potenciales (*Ruditapes decussatus*, *R. philippinarum*, *Venerupis aurea*, *Venerupis pullastra* y *Venerupis rhomboides*).

3- Desarrollo de una sonda genética para el estudio de la evolución de la infección en los tejidos del huésped mediante técnicas de hibridación *in situ*.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Granada.

Centro: Facultad de Ciencias.

Departamento: Genética.

Organismo: Junta de Andalucía.

Centro: Consejería de Agricultura y Pesca

Departamento: CICEM "Agua del Pino".

DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO:

Nombre: Manuel.

Apellidos: Ruiz Rejón.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El presente proyecto se realiza en dos lugares diferentes, en las instalaciones del CICEM "Agua del Pino" y en las instalaciones del departamento de Genética de la Universidad de Granada.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Se trata de caracterizar una secuencia repetida específica del parásito con el fin de diseñar un método de diagnóstico basado en la amplificación mediante PCR de tal secuencia.

Para obtener ADN purificado de *Perkinsus atlanticus* se parte de almejas finas infectadas con dicho parásito. Tras la incubación en FTM, los tejidos de dichas almejas son macerados en presencia de tripsina. Los preesporangios son aislados por filtración y cultivados en agua de mar estéril con antibióticos. Las esporas obtenidas tras el cultivo son usadas para la obtención del ADN.

El ADN posteriormente se somete a digestión con una batería de 7 enzimas de restricción diferentes. Tras cortar y separar el ADN genómico de *Perkinsus atlanticus* se observa una banda intensa que tiene unos 730 pares de bases.

Basándose en la especificidad de las secuencias intergénicas del ADN ribosómico clonado, se diseñan unos *primers* de esta región para amplificar específicamente un fragmento de ADN de 554 pb del IGS de *Perkinsus atlanticus*. Estos *primers*, PK1 y PK2, se diseñan para una región de la secuencia clonada que está alejada de los genes 18S y 5S, puesto que las zonas del IGS que están próximas a dichos genes suelen, al igual que los genes, estar más conservadas entre especies. El resultado de una amplificación por PCR utilizando estos *primers* debe ser un producto de 554 pb cuando está presente el parásito.

Para conocer la efectividad de los *primers* como marcadores diagnósticos en experimentos de PCR, se realiza un experimento en el que se analizan diferentes individuos de almeja fina, tanto sanos como infectados (diferentes niveles de infección). Con este análisis se demuestra tanto la efectividad del test de diagnóstico molecular como su sensibilidad.

El disponer de una secuencia específica del parásito permite detectar dicho parásito mediante la aplicación de técnicas de hibridación *in situ*. Estas técnicas se basan en la capacidad que tienen las dos cadenas complementarias de una molécula de ADN de volver a unirse tras haber sido separadas. Al desaparecer las condiciones de desnaturalización las cadenas de ADN vuelven a unirse preferentemente con su homóloga, lo que permite localizar al parásito directamente sobre el tejido del huésped si se utiliza una secuencia de ADN específica del parásito convenientemente marcada. Esto es lo que se conoce como sonda molecular. Esta técnica de hibridación *in situ* es especialmente útil para localizar el parásito en fases muy iniciales de infección, o cuando por su morfología, es difícilmente detectable entre los tejidos del hospedador. Esto permite estudiar con precisión el ciclo de vida del parásito, estudiar el avance de la infección por los tejidos, buscar otros posibles hospedadores y diferenciar si hay más de una especie del parásito afectando a un mismo individuo.

Resultados:

El análisis de la banda de 730 pares de bases pone de manifiesto que es una secuencia muy repetida, relacionada con el ADN ribosómico.

Para terminar de caracterizar molecularmente la región intergénica situada entre los genes ribosómicos 18S y 28S, se amplifica mediante PCR esta región. Para ello, se utilizan *primers* de secuencias conservadas existentes en los genes 28S (extremo final del gen) y 18S (extremo inicial del gen). Se obtiene un fragmento amplificado de 1573 pb, que es clonado en un vector de clonación y posteriormente secuenciado. El fragmento amplificado incluye los últimos 57 pb del gen 28S, un espaciador intergénico de 238 pb, la secuencia completa del gen 5S (124 pb), que se intercala en el espaciador intergénico IGS, el resto del espaciador IGS (1084 pb), y el extremo inicial del gen 18 S (70 pb). Este producto amplificado incluye por tanto, al fragmento de 730 pb clonado por el método convencional.

El diseño de una pareja de *primers* (PK1 y PK2) que amplifique una región específica de *Perkinsus atlanticus* tiene como principal objetivo su utilidad en el diagnóstico de infecciones parasitarias de almejas. Para comprobar la especificidad de los *primers*, en primer lugar se trata de averiguar si amplifican sólo y exclusivamente la región de 554 pb para la que han sido diseñadas a partir de ADN purificado de *Perkinsus atlanticus*. Los resultados demuestran que los *primers* amplifican con éxito dicha región de 554 pb, lo que permite comprobar la eficiencia de los *primers* propuestos.

Gracias al desarrollo de la sonda de diagnóstico ha sido posible desarrollar la técnica de hibridación *in situ* para la detección de *Perkinsus atlanticus* en los tejidos de la almeja.

Conclusiones:

Analizada la secuencia del espaciador intergénico IGS, se comprueba que la secuencia de este espaciador de *Perkinsus atlanticus* es muy diferente a la de los espaciadores IGS de otras especies, por lo que la secuencia intergénica de *Perkinsus atlanticus* constituye un buen marcador taxonómico y, por ello, se puede utilizar para el diagnóstico de la enfermedad.

Se comprueba que el ADN amplificado de 554 pb que se obtiene por PCR usando los *primers* PK1 y PK2, una vez secuenciado, se corresponde con el fragmento de ADN que se quiere amplificar.

Tras el análisis de diferentes individuos de almeja fina se concluye que el método tiene una efectividad elevada pues sólo se obtienen productos de amplificación de 554 pb cuando se trata de ADN obtenido a partir de almejas infectadas, pero no sanas. Además, dado que se ha utilizado ADN genómico de almejas que presentan diferentes niveles de infección se ha cuantificado la sensibilidad de los *primers*: almejas fuertemente infectadas muestran una mayor cantidad de producto amplificado, mientras que la cantidad de producto amplificado decrece conforme el nivel de infección de las almejas analizadas también se va reduciendo.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Cataluña:

- **1997:** Mapa zoonosológico de *Perkinsus* sp. en Cataluña.

Comunidad Autónoma Balear:

- **1999:** Mapa zoonosológico de los cultivos de bivalvos (*O. edulis*, *M. galloprovincialis* y *V. verrucosa*) en el Port de Maó (Menorca).

COMENTARIOS FINALES.

El test de PCR para *Perkinsus atlanticus* demuestra ser un método fácil, rápido, sensible y no lesivo, de diagnóstico, para infecciones producidas por *Perkinsus atlanticus* en diferentes almejas, infecciones que no son detectadas por los métodos tradicionales. Estos resultados y conclusiones son comparables a los obtenidos en trabajos encaminados a obtener tests de PCR para el diagnóstico de otras enfermedades parasitarias como las ocasionadas por *Perkinsus marinus*.

En la actualidad se desarrollan estudios mediante sonda molecular encaminados a dilucidar la progresión de la infección en los tejidos de almeja y a poner en evidencia la presencia de *Perkinsus atlanticus* en otras especies de almejas.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Publicación realizada por la Viceconsejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía con el nombre "La detección de *Perkinsus atlanticus* en la almeja fina mediante técnicas moleculares".

Publicación en la revista *Parasitology* con el nombre "Molecular characterization of ribosomal RNA genes of *Perkinsus atlanticus*: its use in phylogenetic analysis and as a target for a molecular diagnosis".

Publicación en el II Congreso de la Sociedad Española de Genética celebrado en La Coruña en Septiembre de 1999 con el nombre "Caracterización de los genes ribosómicos de *Perkinsus atlanticus*."

Publicación en EAFP Ninth International Conference on Diseases of Fish and Hellfish celebrado en Rodas (Grecia) en septiembre de 1999 con el nombre "Molecular diagnosis of *Perkinsus atlanticus* in *Ruditapes decussatus*".

10. PROYECTO: OPTIMIZACIÓN Y MEJORA DEL CULTIVO SEMI-INTENSIVO DE DORADA (*Sparus aurata*) EN GRANJAS MARINAS EN SAN FERNANDO (CÁDIZ)

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

Mejorar la calidad del cultivo semi-intensivo de dorada en estanques de tierra mediante la optimización del aporte de piensos y el aprovechamiento de los recursos naturales.

- 1- Controlar la calidad del agua durante su permanencia en el cultivo.
- 2- Controlar el deterioro de los fondos de los estanques y los aportes de materia orgánica al medio natural.
- 2- Estudiar las preferencias alimentarias y la selección de presas de la dorada durante el cultivo.
- 4- Estudiar el efecto de la reducción del aporte de pienso en el crecimiento de las doradas.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Cádiz.

Centro: Facultad de Ciencias del Mar.

Departamento: Biología Animal, Vegetal y Ecología.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: José Antonio.

Apellidos: Hernando Casal.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El presente proyecto se realiza en los estanques de los esteros que la empresa "Mariscos Andaluces S.L." posee en la antigua salina "Los Hermanos" situada en el término municipal de Chiclana de la Frontera (Cádiz).

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Caracteres del medio:

Se dispone de doce estanques de una capacidad aproximada de 4.200 m³, convenientemente preparados.

El agua procede del caño de Sancti-Petri y es introducida con la ayuda de una bomba de 1.000 l/m³, y que funciona durante el tiempo de cultivo con una media de 5-6 horas en cada marea, renovando de esta manera un 10-15% del agua de cada estanque.

Los estanques denominados 1 y 2 se mantienen vacíos y en el resto se estabulan 7.000 juveniles de dorada con un peso aproximado de 4,0 gramos, alimentados con piensos adecuados para su tamaño y en las dosis recomendadas hasta que la media de peso de los peces de cada estanque es de 70 gramos.

A partir de que los peces alcanzan un peso alrededor de los 70 gramos se cambian las pautas de alimentación:

- Estanques 1 y 2: Vacíos. Control del macrobentos y del medio de cultivo.
- Estanques 3 y 10: Aporte de pienso adecuado al tamaño de los peces y en las dosis recomendadas hasta el final del cultivo. Control del crecimiento de los peces.
- Estanques 4 y 11: Aporte de la mitad de las dosis de pienso recomendadas diariamente.
- Estanques 17 y 18: Desarrollo del cultivo estándar suprimiendo el pienso en el último mes de cultivo.
- Estanques 5, 6 y 7: Unidos debido a que los temporales de levante y poniente del mes de noviembre que derrumbaron los muros, se utiliza como una unidad con aporte estándar de pienso.

En cada estanque "in situ" y con monitores portátiles se mide mensualmente el pH, la conductividad/salinidad, concentración de oxígeno disuelto y la temperatura máxima y mínima (diariamente), así como la transparencia del agua. Se toman mensualmente muestras de agua en cada uno de los estanques, para analizar amonio y nitrito en el laboratorio. Mediante muestreadores "core" se extraen muestras de fango en cada estanque para analizarlas en el laboratorio.

El cultivo de dorada:

El aporte de pienso se realiza utilizando como estándar las dosis recomendadas a los acuicultores por las casas comerciales, determinadas en función de variables que evolucionan de manera continua (Nº de ejemplares presente en cada estanque, peso y talla medios de las doradas del cultivo y temperatura del agua).

Se capturan con artes habituales de estero un mínimo de 50 ejemplares de dorada que son pesados y medidos. A partir de los 70 gramos de peso se sacrifican 50 ejemplares que se trasladan al laboratorio, donde cada ejemplar es medido y pesado (peso total y eviscerado). También se pesa el tubo digestivo completo, vacío y el peso del contenido del tubo digestivo. En total se analizan 1.695 contenidos gastrointestinales para determinar la dieta de las doradas de cultivo, evaluando la dieta como frecuencia de ocupación y como porcentaje de volumen. Se determina también el número medio de cada tipo de presa y el número total de presas.

Para determinar el consumo total de presas, se contabilizan todas las presas encontradas en los contenidos gastrointestinales de las doradas capturadas en cada estanque.

Resultados:

Caracteres del medio:

Los resultados del análisis de las características del medio son los siguientes:

Temperatura y salinidad:

Las variaciones de temperatura del agua de los estanques son suaves, con valores máximos en el mes de agosto, rondando los 30 °C, y mínimos en enero, alrededor de los 10 °C, manteniendo la pauta térmica característica de tipo subtropical semicálido propio de la Bahía de Cádiz.

Las características físico - químicas del medio acuático de los canales de intensivo de la zona, son más estables que los esteros debido a la alta tasa de renovación y a la menor relación superficie/volumen.

La salinidad es un parámetro claramente influido por la evaporación y por la pluviosidad. La sequía sufrida en el tiempo en que se desarrolla el presente estudio, marca que exista muy poca variación en los valores medidos, apareciendo, no obstante, los valores máximos en verano.

Los valores de salinidad son elevados, dentro de los valores normales que se alcanzan en aguas del saco de la Bahía de Cádiz, correspondiéndose a los normales en los canales de intensivo e inferiores a los que se pueden alcanzar en los esteros.

Oxígeno:

Las variaciones tanto del porcentaje de saturación de oxígeno como de la cantidad de oxígeno disuelto (mg/l) son elevadas a lo largo del estudio, pero en ningún momento se observan problemas de anoxia en los ejemplares cultivados.

pH:

El pH oscila entre valores de 7 a 9, con poca influencia de las precipitaciones.

Nitritos:

Los valores de nitritos evolucionan de forma estacional (valores máximos en invierno y mínimos en primavera – verano), observándose picos en determinados estanques en mayo y sobre todo en noviembre – diciembre.

Amonio:

Se observan picos de amonio en el mes de septiembre (estanque 17) y noviembre (estanques 1 y 2), y menos pronunciados en los meses de primavera – verano en otros estanques.

Las concentraciones puntuales de amonio en el agua de cultivo no están originadas por éste sino que son debidas a vertidos puntuales que tienen lugar en la bahía.

El sedimento de los estanques. La materia orgánica:

Los análisis realizados señalan que existe una relación significativa entre la proporción de materia orgánica depositada y el tiempo de ocupación y el mes del año, sin que exista relación con el estanque, y por lo tanto con la carga, esto es la biomasa, o con el aporte de pienso.

No existe una pauta de aumento de la materia orgánica con el tipo de ocupación, mientras que el patrón estacional esta claro: desde octubre hasta enero se produce un incremento en el depósito de materia orgánica, disminuye en febrero y tiende a estabilizarse a partir de marzo.

Los macroinvertebrados:

Se observa el predominio de un reducido grupo de especies, con una diversidad general baja. Dentro de la comunidad de macroinvertebrados, moluscos y crustáceos tienen una presencia, en cuanto a diversidad de especies, similar a la que aparece en otros estudios realizados en las salinas del Parque Natural, a diferencia de los poliquetos, de los cuales únicamente se han recolectado dos especies y de forma más frecuente solo *Nereis diversicolor*.

Los estanques con mayor abundancia de macroinvertebrados son los estanques 1 y 2, es decir, aquellos que no han soportado cultivo de doradas, pero en los que se ha detectado presencia de peces.

El cultivo de dorada:

En todos los estanques la supervivencia el primer mes es del 90% y el resto de los meses del 99%, lo que, teniendo en cuenta los individuos extraídos mensualmente, determina una mortalidad total del 80%.

El peso del contenido gastrointestinal, indicador de la actividad alimentaria, presenta diferencias significativas en función del mes natural, pero no del estanque ni de la pauta de aporte de pienso. Existe una estrecha relación entre el contenido gastrointestinal y la pauta térmica, disminuyendo el peso del contenido gastrointestinal en los meses de temperaturas más bajas en todos los estanques.

No existen diferencias significativas entre los estanques una vez se analiza la actividad alimentaria.

Existen diferencias en el consumo global de invertebrados en función del estanque estudiado, con un consumo muy superior en el estanque 3. El elevado número de presas que diferencia la dieta del estanque 3 del resto de los estanques se debe a que las presas *Corophium* y *Gammarus* suponen casi el 50% del total de las presas y que son crustáceos que no tienen ese peso en la dieta de las doradas de los otros estanques. También existen diferencias en el consumo de presas en relación a la pauta de aporte de pienso, que se manifiestan en un mayor consumo de presas por aquellos estanques sometidos a la dieta estándar.

El consumo de pienso, expresado como porcentaje en volumen del contenido gastrointestinal analizado es ligeramente superior en aquellos estanques sometidos a la pauta de mitad de aporte, pero no existen diferencias significativas en función de la pauta de aporte. El mayor porcentaje de estómagos vacíos tiene lugar en los meses de invierno, de diciembre a marzo, mientras que el mayor número de contenidos con piensos aparece en los últimos meses de cada cultivo, con valores superiores al 80% de la muestra analizada.

El consumo de pienso es mayor en los últimos meses de cultivo, pero se mantiene en un rango alto de manera general salvo en los meses de invierno, cuando la actividad alimentaria es menor y predomina la fracción de invertebrados. En todos los estanques existen diferencias significativas en el consumo mensual de pienso, sin seguir un patrón común.

El mayor consumo de pienso se da cuando el aporte de pienso corresponde a la mitad.

La dorada de cultivo es una especie oportunista que utiliza preferentemente recursos naturales cuando éstos son más abundantes. Pero la selectividad entre los recursos naturales es nula o neutra, esto es, la utilización del recurso es proporcional a su disponibilidad.

La talla de los ejemplares muestreados mensualmente a partir de julio, aumenta de una manera constante y similar en todos los estanques, aunque existen diferencias significativas según los estanques. Las tallas mínimas se obtienen en los estanques 5 y 6 cuya siembra fue la más tardía, mientras que las mayores tallas son alcanzadas por las doradas del estanque 11.

En el caso del peso, la variación es ligeramente diferente, no tan paulatina y constante como en el caso de las tallas, debido a que el peso se encuentra influido por una serie de factores tales como la temperatura, la disponibilidad de recursos, la densidad, etc. Hay un fuerte incremento del peso en el mes de mayo. Además las diferencias entre los estanques vuelven a ser significativas, de nuevo es el estanque 5 el que tiene un peso inferior y el estanque 11 el de mayor peso.

El mismo patrón se encuentra al observar las variaciones del peso eviscerado. El menor crecimiento del estanque 5 se explica por su siembra más tardía, con ejemplares de menor potencial de crecimiento.

El factor de condición representa la relación entre el crecimiento en peso y en longitud, lo que da una idea del grado de engorde del pez. La condición de las doradas presenta diferencias significativas en función del estanque de cultivo, encontrando de nuevo los valores más bajos para el estanque 5 y los más altos para el 4, presentando cierta relación con la pauta de alimentación.

Conclusiones:

Los resultados obtenidos en el estudio señalan que, con las cargas a las que se trabaja, el impacto del cultivo en el medio es reducido. Los niveles más altos de amonio y nitritos no presentan relación con el cultivo, estando posiblemente su origen en vertidos realizados en la Bahía de Cádiz, zona altamente humanizada. En cuanto al aporte de materia orgánica procedente del cultivo, el estudio revela que no existen diferencias significativas en los estanques sometidos a cultivo de aquellos que no lo están y cuya situación puede ser equiparable al medio natural, al estar colonizados por los ejemplares que entraron al llenarse.

Por lo tanto, con las cargas a las que se ha trabajado, el cultivo semi – intensivo no es responsable de impactos negativos en el medio.

Desde el punto de vista trófico, se puede considerar a las doradas como especies oportunistas, capaces de utilizar las presas en función de su disponibilidad, ejerciendo una selección positiva sobre algunos de los recursos. En este sentido, potenciar las características del medio que permitan la proliferación y el desarrollo de estas poblaciones en concreto, posiblemente favorezcan el mayor consumo de estos recursos.

El crecimiento, como condición, se encuentra relacionado con el consumo de pienso, a mayor consumo de pienso, mejor condición.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Andalucía:

- **1997:** Estudio de alimentación y manejo de dorada (*Sparus aurata*) en estanque en régimen semiintensivo.

COMENTARIOS FINALES.

Las cargas utilizadas durante el ciclo de cultivo estudiado, no han sido en ningún caso limitantes ni significativas en cuanto a su impacto a variables ambientales, por lo que se debería intentar llevar a cabo cultivos con mayores densidades.

El peor comportamiento en cuanto a crecimiento de las doradas se ha producido en los estanques donde la siembra se realiza de forma tardía, junio; en estas fechas los peces pueden provenir de puestas tardías o forzadas y por tanto de peor calidad biológica, o provenir de puestas naturales de poco potencial de crecimiento, con lo cual retrasan el establecimiento de cría. Por lo tanto, es recomendable iniciar el cultivo entre los meses de abril y mayo, es decir los meses de primavera, que es cuando la calidad de la “semilla” y las condiciones ambientales son idóneas.

Se aconseja disminuir la dosis de pienso a la mitad de la recomendada por los fabricantes, ya que se estima que en cultivos semi - intensivos, donde existe una comunidad de macroinvertebrados, la población de doradas allí estabulada utiliza los recursos del medio.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Publicación realizada por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía con el nombre “Estudios sobre el cultivo semi – intensivo de la dorada en granjas marinas”.

11. PROYECTO: DESARROLLO E IMPLEMENTACIÓN DE APLICACIÓN INFORMÁTICA PARA GESTIÓN TÉCNICO – ECONÓMICA EN EXPLOTACIONES ACUÍCOLAS DE ENGORDE.

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

Diseño, desarrollo y primera fase de implementación de una aplicación informática orientada hacia la gestión técnico – económica de explotaciones piscícolas marinas de engorde, cuya distribución podría llevarse a cabo gratuitamente.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Almería.

Centro: Escuela Técnica Superior.

Departamento: Biología aplicada.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Francisco Javier.

Apellidos: Moyano López.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El presente proyecto se lleva a cabo en las instalaciones del departamento de Biología Aplicada de la Escuela Técnica Superior de la Universidad de Almería.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

En un primer momento se lleva a cabo la revisión y evaluación de algunas aplicaciones existentes en el mercado ya disponibles por el grupo de trabajo.

Se pretende primeramente diseñar únicamente una aplicación destinada a explotaciones de engorde, pero con una estructura de la aplicación que permita su posterior ampliación hacia instalaciones de preengorde y criadero.

Una vez se ha llevado a cabo un estudio exhaustivo de las aplicaciones del mercado, se pasa al diseño de la aplicación en sí, basada en la combinación de una base de datos, una hoja de cálculo y un programa de gráficos.

Una vez diseñada la aplicación, se procede a ensayar la aplicación en una piscifactoría de la provincia de Almería. Si la operatividad y resultados son los esperados, se planteara el diseño de un análisis de grupo, contando para ello con la difusión que entre los acuicultores puede realizar la correspondiente Dirección general.

Resultados:

Se ha realizado una aplicación que recibe el nombre de CIPRES (Control Integrado de Piscifactorías: Rendimiento, Estadísticas y Seguimiento).

Con esta aplicación se pueden almacenar datos de diferentes piscifactorías concernientes a datos generales de manejo de lotes tales como, datos generales de lotes de peces que en una determinada piscifactoría se cultivan, variables ambientales de las aguas de la piscifactoría, así como un registro tanto de las operaciones diarias como de las operaciones periódicas que allí se llevan a cabo.

También se puede llevar a cabo la introducción de variables económicas tales como precio de piensos, precio de compra de alevines, precio de venta de lotes, coste total de mano de obra e instalaciones, impuestos, amortizaciones, etc.

Combinando los datos del lote con los datos de las variables económicas, se llevan a cabo diferentes operaciones que generan un informe.

Lamentablemente, no se ha llegado a concluir la aplicación y por tanto no ha llegado a ser operativa.

Conclusiones:

La aplicación informática para la gestión técnico – económica en explotaciones acuícolas de engorde es una versión preliminar que ha servido para evaluar los principales aspectos prácticos que una herramienta de este tipo debería gestionar. No se ha hecho operativa ya que su completo desarrollo y evaluación habría requerido una inversión económica superior a la inicialmente presupuestada.

COMENTARIOS FINALES.

Debido a diversos problemas como el cambio de persona dedicada a la programación, el presente proyecto tuvo que limitar sus objetivos iniciales, restringiéndose al desarrollo de una versión preliminar del software.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Los resultados parciales fueron presentados en una Jornada de Divulgación realizada en la Consejería de Agricultura y Pesca en Sevilla y en unas Jornadas patrocinadas por la Diputación de Almería sobre las actividades de los Grupos de Investigación de la Universidad de Almería.

12. PROYECTO: ESTUDIO DE LA ALIMENTACIÓN Y MANEJO DE ESTANQUES EN CULTIVOS SEMI-INTENSIVOS DE DORADAS

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1999

OBJETIVOS:

Establecer la dosificación óptima y su distribución en el tiempo del alimento en cultivo de doradas.

Evaluar los métodos de suministro en estanques para evitar la acumulación de pienso en el fondo y el deterioro de las condiciones de cultivo.

Para todo lo dicho anteriormente, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar el alimento sobrante en condiciones normales de cultivo, a diferentes volúmenes y con distintos regímenes de dosificación del alimento.
- Establecer las correspondientes tasas de crecimiento e índices de conversión.
- Establecer las pautas de movimiento de las doradas en estanques de cultivo, y su relación con el suministro de alimento.
- Ensayar nuevas dosificaciones a distintos volúmenes de cultivo y evaluar sus resultados en cuanto a aprovechamiento y asimilación.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Delegación Prov. de Huelva.

Centro: CICEM "Agua del Pino".

Departamento: Producción.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Oscar.

Apellidos: Moreno Escalante.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Una primera parte del proyecto, el cultivo de dorada en tanques, se lleva a cabo en las instalaciones del CICEM "Agua de Pino"; mientras que la segunda parte del proyecto, el cultivo de dorada en estanques de tierra, tiene lugar en las instalaciones de la empresa Langostinos de Huelva, S.A.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología. Alimentación en tanques de cultivo:

Las experiencias en medio controlado se desarrollan durante dos años (entre mediados de julio y mediados de diciembre en 1998 y entre agosto y diciembre en 1999), en épocas en las que la temperatura del agua supera los 13-14 °C para asegurar la alimentación de los ejemplares y por tanto los resultados de los ensayos.

Para los cultivos de doradas se pretende que la carga en los tanques sea la misma que la que se establece en los cultivos semiintensivos en estanques de tierra ($\approx 1 \text{Kg/m}^3$), para poder comparar los resultados obtenidos en los tanques de pequeño volumen con lo que ocurre en el medio natural.

Se establecen dos condiciones de cultivo diferentes:

- *Tanques cilíndricos de polietileno (TC) de 15 m³.*

Agua de mar filtrada por 100 μm y temperatura ambiente, ya que se encuentran en un área descubierta. Los tanques son cubiertos por una malla de sombrero para evitar la proliferación de macroalgas, muy intensa durante el verano.

Durante el verano de 1998 se utilizan 3 tanques de cultivo, en cada uno de ellos se cultivan 75 doradas de un peso aproximado de 220 g y 23 cm de longitud total en el muestreo inicial. Durante 1999 se utilizan 2 tanques con 75 doradas cada uno pero con un peso medio de 163 g y 21 cm de longitud total.

- *Tanques rectangulares de hormigón (TH) con 5 m³ de volumen.*

Agua filtrada por 25 μm , pasada por una luz ultravioleta y con temperatura aproximadamente constante de 20 ± 1 °C ubicados dentro de una nave de cultivo. En este caso, se cuenta con dos tanques durante 1998 y tres durante 1999, en ambos años se introducen 25 ejemplares de doradas de tamaño similar con el fin de mantener la carga inicial de los cultivos.

Diariamente se toma en cada tanque una temperatura máxima y mínima, lo que permite establecer la dosis aportada de alimento.

Semanalmente se realiza un control de talla y peso a uno de los tanques de alguno de los tratamientos alternativamente, considerando que los valores obtenidos son extrapolables para las demás réplicas. En cada muestreo se recogen 25 ejemplares. En el primer y último muestreo, se cuenta con el total de los ejemplares en los tanques.

Para la alimentación de los tanques se utiliza pienso extruido marca Trouw tipo Trouvit B-22 de tamaño de grano 5, el adecuado para el tamaño de los peces según la tabla de dosificación suministrada por el fabricante.

En las dos condiciones de cultivo la estrategia de alimentación es la siguiente:

- Aportar inicialmente el pienso según la tabla de dosificación.
- Recoger al día siguiente el pienso sobrante.

- En caso de sobrar pienso, repetir la misma dosis durante dos o tres días, y posteriormente reducir el aporte un punto bajo el valor recomendado por la tabla. En caso de no recoger pienso sobrante, se aumenta la dosis un punto sobre el valor de la tabla.

El aporte de pienso se realiza diariamente de forma manual mediante bandejas de fondo de malla por la mañana, después de haber recogido las sobras del día anterior. En las bandejas de fondo de malla se deposita el pienso previamente pesado, lo que permite la recuperación de la bandeja en cualquier momento sin pérdida significativa de pienso.

Después de suministrar el pienso sobre las bandejas, al día siguiente se procede a recoger el contenido sobrante, vertiéndolo después sobre otro filtro de luz de malla de 200 μm y dejándolo escurrir durante 24 horas. Posteriormente se pesa el pienso así escurrido.

Resultados. Alimentación en tanques de cultivo:

La siguiente tabla muestra los valores de temperaturas máximas y mínimas (media+intervalo de confianza) durante el periodo de estudio en 1998 y 1999:

Año	Tanques	Máxima	Mínima
1998	Temp. amb.	20,79+0,88	19,03+0,87
1998	Temp. const.	20,26+0,23	19,53+0,24
1999	Temp. amb.	22,44+0,61	20,71+0,56
1999	Temp. const.	20,19+0,26	19,75+0,25

Se observa que, en los tanques a 20°C, la temperatura se mantiene estable a lo largo del periodo de estudio. En los tanques a temperatura ambiente, el cultivo se inicia a temperaturas relativamente altas y van descendiendo a medida que avanza el otoño, llegando un momento en que la temperatura desciende hasta tal punto que la tasa de alimentación de las doradas es muy baja.

Las pautas de crecimiento de las doradas sometidas a los tratamientos descritos son diferentes. Los ejemplares en condiciones de temperatura ambiente presentan mayor crecimiento en peso y éste es semejante en las tres réplicas de la experiencia. Para ambos años, en los tanques con temperatura 20°C, el crecimiento es ligeramente menor y se ajusta de manera más exacta a una recta, debido al mantenimiento de la temperatura.

En la siguiente tabla se recogen los resultados finales de cultivo en peso:

Año	Tratamiento	Peso final (g)	Carga final (g)	Días de cultivo
1998	Temp. amb.	494,5	37.083	197
1998	Temp. cte. (20°C)	437,8	10.945	195
1999	Temp. amb.	505,8	37.937	194
1999	Temp. cte. (20°C)	436,1	10.902	190

El consumo de pienso se expresa como porcentaje en peso de pienso seco en relación con la carga del tanque. Se observan grandes variaciones en los consumos de pienso en los diferentes tanques el mismo día, como en un mismo tanque en días sucesivos. Las tasas medias de consumo de pienso para los distintos tanques a temperatura ambiente son de 1,58, 1,61 y 1,67 respectivamente y 1,72 y 1,67 para los de temperatura 20°C en 1998, mientras que en 1999 los valores son de 1,01, 1,04 y 1,10 para los tanques a 20°C y de 1,71 y 1,72 para los tanques a temperatura ambiente.

Las tasas de conversión del pienso resultan ser de 1,87 para los tanques a temperatura ambiente y 1,74 para los tanques a temperatura constante.

Para los tanques a temperatura constante, no se observa ninguna relación entre el consumo de pienso y los factores considerados (temperatura y peso) en ninguno de los dos años, mientras que en los tanques a temperatura ambiente sí se observa una relación entre el consumo de pienso y la temperatura.

A individuos mayores se obtienen tasas de alimentación menores, pero los resultados de las experiencias no permiten establecer una relación clara para ambos tratamientos.

Conclusiones. Alimentación en tanques de cultivo:

Las pautas de crecimiento de las doradas sometidas a temperatura ambiente y las pautas de comportamiento de las doradas sometidas a una temperatura constante de 20°C son diferentes, siendo el crecimiento de las que se encuentran sometidas a temperatura ambiente mayor.

La tasa de alimentación depende fundamentalmente de dos factores: la temperatura del agua (relación directa) y el peso de los peces (relación inversa). Así, los consumos de pienso por las doradas, calculado como diferencia entre el pienso aportado y recogido, varía a lo largo de las experiencias principalmente en función de las variaciones de la temperatura.

Se observan descensos importantes del consumo en los tanques a temperatura constante, debidos fundamentalmente al aumento del peso de los ejemplares y a la ligera disminución de la temperatura que se produce al final de la experiencia.

En los tanques a temperatura ambiente y durante la época estival se produce un aumento de la tasa de ingestión proporcional a la temperatura sin que se observe que la temperatura puede llegar a ser un factor limitante. De todas formas, temperaturas máximas superiores a las obtenidas (27°C) son poco recomendables para cualquier cultivo de peces, por lo que no son de interés ensayos a temperaturas superiores.

Metodología. Cultivo en estanques de tierra:

El objetivo principal de esta experiencia es evaluar el comportamiento de las doradas en un estanque de cultivo. Para ello, se marcan algunos ejemplares con marcas electrónicas que van adosadas al dorso de los individuos. Con la ayuda de un hidrófono direccional, se realiza un seguimiento puntual en el tiempo de los ejemplares marcados, con el propósito de hacer un seguimiento de las doradas en el momento de aporte de pienso y estimar si realizan posteriores visitas a la zona de alimentación.

Las experiencias en estanques se llevan a cabo en verano, eligiéndose dos balsas. Una de las balsas tiene una superficie de 24.416 m² y en ella se siembran 122.351 doradas de 34,5 gramos en octubre de 1997 y al comienzo de la experiencia el peso medio es de 167,5 gramos; la otra balsa con 11.582 m² se siembra con 44.413 doradas de 48,4 gramos en octubre de 1997 siendo su peso al inicio de la experiencia de 204,2 gramos.

La alimentación de las doradas en los estanques se realiza mediante aporte desde un muro, utilizando una máquina tractor manejada por un operario, que dispersa el pienso a gran distancia sobre la balsa y a lo largo de todo un lateral de la balsa.

Resultados. Cultivo en estanques de tierra:

Primeramente se marca a los ejemplares, que una vez marcados, se mantienen en un tanque aparte en observación hasta constatar su total recuperación, momento en el cual se trasladan a la balsa donde se realiza el control con el receptor de ultrasonidos.

El comportamiento de las doradas marcadas en el estanque es muy variable, y el hecho de obtener datos puntuales a lo largo del día no permite establecer una pauta clara.

No se observa una relación entre la situación de las doradas y la concentración de oxígeno disuelto. Incluso en verano, en condiciones de menor concentración de oxígeno no se observa que las doradas se dirijan a zonas como la compuerta de entrada de las balsas, más ricas en oxígeno.

Sí se observa un comportamiento relacionado con la alimentación. Las doradas distribuidas por diversas zonas de la balsa, se dirigen en el momento del aporte hacia la zona donde se suministra el alimento. Sin embargo, no se puede constatar si hay visitas posteriores a la zona de alimentación para ingerir pienso depositado en el fondo, pero esto parece ser así, ya que las redes de malla fina colocadas en el fondo de la balsa, donde se deposita el pienso al caer después del aporte, resultan vacías al ser retiradas.

Conclusiones. Cultivo en estanques de tierra:

El aporte de alimento lleva asociado el agrupamiento, en un breve tiempo, de los ejemplares en la zona de alimentación, para posteriormente desplazarse a otras áreas consideradas de descanso, pero no se descarta que puedan realizar visitas en otro momento con el fin de aprovechar el pienso inicialmente no consumido y que por su estabilidad se encuentra disponible en el fondo de las balsas.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Canarias:

- **1997:** Evaluación del empleo de fuentes proteicas de diverso origen en piensos de engorde de dorada (*Sparus aurata*).
- **1998:** Evaluación del empleo de fuentes proteicas de diverso origen en piensos de engorde de dorada. (Continuación de años anteriores).
- **1999:** Evaluación del empleo de fuentes proteicas de diverso origen en piensos de engorde de dorada. (Continuación de años anteriores).

Comunidad Autónoma de Andalucía:

- **1997:** Evaluación a escala piloto de una dieta inerte microencapsulada para el cultivo larvario de peces marinos (dorada y lenguado) desde la primera semana de vida hasta el uso de piensos comerciales.
- **1997:** Optimización y mejora del cultivo semiintensivo de dorada (*Sparus aurata*) en granjas marinas de San Fernando (Cádiz).
- **1999:** Mejoras prácticas en el preengorde de dorada. Cultivo en jaulas. (Proyecto coordinado con la Comunidad Autónoma de Baleares).

COMENTARIOS FINALES.

El crecimiento de la dorada depende en gran manera de la temperatura, lo que obliga a planificar bien los cultivos porque la época del año para la siembra de alevines o semillas va a depender de cuándo se quiera obtener el producto final por necesidades del mercado, teniendo en cuenta que durante al menos 3 meses no se va a producir un incremento apreciable del peso, y de sí las condiciones ambientales son las adecuadas para la propia siembra.

13. PROYECTO: ENSAYO DE DETOXIFICACIÓN DE MOLUSCOS BIVALVOS

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

Determinación del tratamiento más adecuado para la eliminación de la biotoxina PSP (Paralytic Shellfish Poison), que habitualmente acumulan “corrucos” (*Acanthocardia tuberculata*) y “vieiras” (*Pecten maximus*) en los bancos naturales del litoral Mediterráneo

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Delegación de Agricultura y Pesca de Huelva.

Centro: CICEM “Agua del Pino”.

Departamento: Producción.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Manuela.

Apellidos: Santamaria Martínez.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La toma de muestras se efectúa mediante barcos en las zonas de actividad del sector, en distintas fases del año y el análisis de las muestras se realiza en las instalaciones del CICEM “Agua del Pino”.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

El inicio de la experiencia tiene lugar con la llegada al CICEM de los primeros ejemplares. Como paso previo se plantea llevar a cabo unos **ensayos de estabulación** tanto de vieiras como de corrucos, para determinar las condiciones más idóneas de su ubicación en el Centro.

Las vieiras son colocadas en cestas de ostras suspendidas en los tanques del semillero del Centro; y los corrucos se distribuyen en bandejas de reproductores de almejas. Para ambos, circuito abierto de agua a 20 °C con aporte continuo de alimento cultivado en las instalaciones del CICEM.

A partir de los ensayos previos de supervivencia, en el transcurso del año se **analizan biotoxinas** en tres lotes más de corrucos y dos de vieiras. La biotoxina estudiada en los corrucos es la P.S.P. (biotoxina hidrosoluble paralizante) dado que en los corrucos muestreados se alcanzan niveles no tolerados de la misma. La biotoxina estudiada en vieiras es la A.S.P. (toxina amnésica).

El método de determinación de la biotoxina P.S.P. es su extracción en caliente, en medio ácido, macerado acuoso de la vianda o carne de molusco bivalvo y, eliminación de la misma utilizando el bioensayo de ratón.

La preparación de las muestras para la detección de A.S.P. se realiza según el método descrito por Lawrence et al y Quilliam et al.

A lo largo de los ensayos de detoxificación se analiza diariamente el agua de entrada en los tanques ya que la luz de malla de los filtros puede permitir el paso de algunas especies de fitoplancton productoras de toxinas tipo P.S.P.

Resultados:

En cuanto al **método de estabulación** se refiere, las vieiras se adaptan perfectamente, no presentando ningún problema de mortalidad y adaptándose este sistema de mantenimiento de ejemplares para sucesivos bioensayos. En los corrucos las pérdidas son considerables desde un principio. A causa de la alta mortalidad de corrucos estabulados en bandejas de reproductores de almeja, se ensayan otros sistemas de mantenimiento, primero en sustrato arenoso, luego en cestas igual que las vieiras; y por último, en cestas directamente depositadas en el fondo de los tanques, siendo éste el sistema más adecuado para la supervivencia de los ejemplares, lo que permite el seguimiento del lote de corrucos durante dos meses.

Para la realización de los ensayos de **determinación de la biotoxina P.S.P.** en corrucos, se utilizan 20 ejemplares, realizándose un análisis inicial a la llegada de cada lote, de cinco muestras cada uno y sucesivos análisis semanales de 2 ó 3 muestras. En los tres lotes de corrucos analizados (corrucos 2, corrucos 3 y corrucos 4), a pesar de haber mantenido a los individuos en condiciones fuera de la influencia de la biotoxina durante periodos entre 4 y 6 semanas, el nivel de ésta baja algo pero nunca por debajo de los 300 µg/l, que es el límite superior permitido según la normativa vigente.

Se utilizan dos lotes de vieiras para la **determinación del contenido de A.S.P.** Las concentraciones de ácido domoico (µg/g de tejido) detectadas en las vieiras analizadas oscilan entre 28,67 y 145,60 ppm según Lawrence; y entre 80,17 y 167,29 según Quilliam, siempre por encima del límite permitido, observándose una variabilidad significativa entre los dos métodos, siendo la técnica de Quilliam la que presenta valores más altos. No se observan diferencias significativas entre las distintas réplicas analizadas según la variabilidad de la talla media, desviación típica, talla máxima y talla mínima.

Conclusiones:

Tanto en corrucos como en vieiras, se concluye que no es efectiva una detoxificación de P.S.P ó A.S.P. mediante la técnica de someter a los ejemplares a una depuración temporal en medio exentos de las biotoxinas.

COMENTARIOS FINALES.

Ya que el método utilizado en la determinación de biotoxinas no ha dado los resultados esperados, sería conveniente ampliar los estudios de influencia de métodos de refrigeración o congelación en el descenso de la toxicidad para ambas especies, lo cual podría ser más práctico y viable.

14. PROYECTO: OBTENCIÓN DE BIOMASA CONCENTRADA DE MICROALGAS MARINAS PARA SU UTILIZACIÓN COMO ALIMENTO LARVARIO DE ESPECIES MARINAS

AÑO:

Comienzo del plan: 1997

Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

- 1- Aplicar los procedimientos más asequibles para concentrar cultivos masivos de varias especies de microalgas marinas y evaluar su eficacia.
- 2- Determinar la capacidad de preservación de los concentrados celulares con el tiempo y modo de almacenamiento.
- 3- Evaluar una serie de metodologías avanzadas para la determinación fiable y rápida de la viabilidad celular y estado fisiológico de las poblaciones celulares, bajo los distintos tratamientos.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Centro: Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía.

Departamento: Oceanografía.

Organismo: Junta de Andalucía.

Centro: Consejería de Agricultura y Pesca.

Departamento: CICEM "El Toruño".

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Luis M^a.

Apellidos: Lubián Chaichío.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El presente proyecto se realiza en las instalaciones de dos instituciones diferentes. En el CICEM "El Toruño" se realizan los cultivos masivos de microalgas marinas así como su concentración y conservación. La función del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía se centra en los aspectos analíticos para evaluar la viabilidad celular en función de los distintos tratamientos de concentración y almacenamiento.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Las especies de microalgas marinas utilizadas en el estudio, escogidas por su interés en el campo de la Acuicultura o de la Biotecnología, son *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis gaditana*, *Dunaliella salina* y *Isochrysis galbana*.

Los cultivos de las microalgas marinas se basan en el uso de agua de mar natural microfiltrada y medio f/2 como fertilizante. Los cultivos masivos se realizan en bolsas de 400 litros alcanzando densidades máximas entre 125 y 250 mg de biomasa seca por litro de cultivo, según la especie de alga. En tanques de 2.000 litros las densidades máximas se sitúan entre 90 y 250 mg de biomasa seca por litro. Bajo condiciones óptimas de luz y temperatura, en el periodo comprendido entre Mayo y Octubre, se consiguen densidades máximas de 600 mg de materia seca por litro, en cultivos de la microalga *N. gaditana*.

Los métodos que se establecen para la concentración de los cultivos de microalgas son tres:

- 1- Micropulverización en contracorriente de aire caliente ("spray drying").
- 2- Centrifugación en continuo.
- 3- Filtración tangencial.

Desde el punto de vista de la conservación de concentrados algales, se siguen dos criterios:

- 1- Conservación de biomasa inerte apta para su uso como alimento acuícola; los concentrados de microalgas son liofilizados y envasados al vacío.
- 2- Preservación de la biomasa concentrada viva; los concentrados se mantienen refrigerados a 2°C.

Las densidades celulares de los cultivos de partida en cada una de las especies y las de los concentrados celulares que se obtienen se especifican en la siguiente tabla:

Especies	Densidad celular partida N 10 ⁶ cél ml ⁻¹	Den. celul. concentrado N 10 ⁶ cél ml ⁻¹	Factor de concentración
<i>T. suecica</i>	1,7	85,0	x 50
<i>N. gaditana</i>	57,0	17.100	x 300
<i>D. salina</i>	0,65	32,5	x 50
<i>I. galbana</i>	7,0	350,0	x 50

Los concentrados se dividen en cuatro lotes que son almacenados en cámara fría (condiciones de oscuridad y temperatura de 5 °C). Los cuatro lotes corresponden a las siguientes cuatro variantes de almacenamiento:

- A- Almacenamiento directo, sin ningún tratamiento adicional (control).
- B- Almacenamiento en atmósfera inerte (nitrógeno).
- C- Almacenamiento en medio hipersalino (salinidad 120).
- D- Almacenamiento del concentrado previa adición de cloranfenicol (40 ppm).

A intervalos de tiempo se toman muestras de cada lote y para cada especie, para llevar a cabo los distintos análisis conducentes a determinar la viabilidad de material biológico.

En cada una de las especies se prueban siete concentraciones distintas, obtenidas por filtración tangencial a partir del cultivo original (C1); del mismo modo, también se hacen sucesivas diluciones.

Todos los concentrados se almacenan en cámara fría y se toman muestras sucesivamente en el tiempo para analizar la viabilidad celular. Para la determinación de la viabilidad celular se han utilizado cuatro métodos:

- 1- Capacidad de regeneración de cultivos a partir de concentrados.
- 2- Determinación del nivel de degradación de los pigmentos fotosintéticos.
- 3- Medidas de la capacidad fotosintética.
- 4- Citometría de flujo.

Resultados:

La concentración de microalgas marinas basada en la **micropulverización del cultivo algal en contracorriente de aire caliente (“spray-drying”)** permite obtener células ya secas, si bien, paralelamente a la cosecha de microalgas, se produce la deposición de sal disuelta en el medio de cultivo, la cual, en términos de peso seco representa una fracción muy superior en relación al peso máximo obtenido para las microalgas. La desproporción de sal producida al utilizar este sistema de cosechado para algas, desaconseja su uso directamente en cultivos.

La concentración de microalgas marinas basadas en una **centrifugación en continuo** produce una pasta de algas escurrida, sin prácticamente agua en el espacio intercelular, lista para su congelación y/o liofilización posterior.

Este método se encuentra bien caracterizado permitiendo recoger de una manera rutinaria una pasta de algas lista para, según se elija, resuspender o liofilizar. De forma general, las células mayores (procedentes de las tres especies de mayor tamaño, *T.suecica*, *D.salina* e *I.galbana*) son centrifugadas con los mayores caudales (400 l/h), obteniendo una retención celular prácticamente del 100%, mientras que las células menores (*N.gaditana*) son procesadas con un bajo caudal (250 l/h) consiguiendo retenciones del 90-95%.

Las cuatro especies de microalgas estudiadas no experimentan mortalidad tras el proceso de centrifugación.

La concentración de microalgas marinas basadas en una **filtración tangencial** permite obtener hiperconcentrados celulares, en los que el factor de concentración celular llega a ser de 200. Es el sistema ideal para estudiar la capacidad de almacenamiento en el tiempo de las microalgas bajo refrigeración a 2°C.

La concentración celular de las microalgas *T.suecica*, *D.salina*, *I.galbana* y *N.gaditana* produce resultados similares para las cuatro especies, indicador de que para este proceso es de escasa importancia el tipo de célula algal utilizada.

Esta técnica de concentración no afecta a la viabilidad celular de las microalgas estudiadas. Las cuatro especies son capaces de regenerar cultivos.

La conservación de biomasa algal se realiza de dos maneras diferentes:

1- Liofilización de microalgas previamente concentradas mediante centrifugación en continuo.

2- Pasta algal, debido a la sensiblemente menor cantidad de agua intercelular, lo cual favorece la ulterior liofilización.

Una vez liofilizadas, las microalgas son envasadas en bolsas al vacío para su posterior estudio o utilización como alimento.

Respecto a la capacidad de **regeneración de cultivos a partir de concentrados**, se obtienen dos tipos de respuesta claramente diferenciados según la especie. Así en *D.salina* e *I.galbana* se observa un descenso lineal de viabilidad a partir de los 7 días de almacenamiento, disminución de la viabilidad que fluctúa hasta los 15 días para *I.galbana* y los 21 días para *D.salina*, momentos en los cuales no se puede obtener cultivo nuevo a partir de ambos concentrados.

Con *T.suecica* y *N.gaditana* los resultados son más satisfactorios, manteniendo durante un mayor periodo de tiempo la capacidad de regenerar cultivos en ambos casos, con una clara influencia de las condiciones de almacenamiento de los concentrados. En el caso de *T.suecica* los mejores tratamientos resultan ser el propio control y el almacenamiento bajo condiciones de salinidad elevada, en los que aún se obtiene crecimiento al cabo de 190 días de almacenamiento. Con *N.gaditana* los resultados son similares en cuanto a que los concentrados celulares mantienen la capacidad de regenerar cultivos al menos durante dos meses después de haberlos almacenado, con independencia del modo de hacerlo.

Los análisis de **feopigmentos** no muestran ser un buen indicador de la viabilidad celular, ya que excepto *I.galbana*, en el resto de las especies no se detectan feopigmentos, incluso en el caso de *D.salina* que al cabo de 15 días de almacenamiento no es capaz de generar nuevos cultivos en ninguno de los tratamientos.

Los datos que se obtienen con el **fluorímetro** aplicando la técnica de pulso de saturación de luz muestran que tanto en *T.suecica*, como *N.gaditana*, el rendimiento fotoquímico óptimo disminuye conforme aumenta el periodo de almacenamiento, cualquiera que sea el modo en que se lleve a cabo.

Se realizan **análisis con el citómetro de flujo**. Los resultados del primero de ellos muestra como las poblaciones de las distintas microalgas sin concentrar se distribuyen para cada caso en una nube bien definida. Existen una serie de eventos fuera de ésta nube de puntos que corresponde a lo que se conoce como “debris” o partículas de deshecho, generalmente partículas subcelulares procedentes de células lisadas. En estas mismas poblaciones, una vez concentradas mediante filtración tangencial, excepto en *N.gaditana* que lo es mediante centrifugación, se observa como el aumento de estas partículas es claramente patente en los casos de *D.salina* y *T.suecica*, con una disminución ostensible de la población celular inicial. Esto es indicativo de uno de los principales problemas que tiene el proceso de concentración, la lisis celular, que se manifiesta en especies que como *D.salina* carecen de pared celular. En el caso de *T.suecica* éste efecto es menor y no parece afectar más que a una parte lo suficientemente pequeña de la población, como para que los resultados de viabilidad sean comparables con los obtenidos en otra especie como *N.gaditana*, que no se ve afectada por el proceso de concentración celular.

Respecto a *I.galbana*, el proceso de concentración no parece afectar a la integridad celular, por lo que la pérdida de viabilidad a los pocos días de ser almacenada se debe a causas relacionadas con la tolerancia a la propia concentración celular o el modo de almacenamiento.

Conclusiones:

La filtración tangencial se revela como un sistema idóneo, alternativo a la centrifugación, para obtener concentrados celulares y proceder a su almacenamiento.

La viabilidad de los concentrados de microalgas en función del tiempo y modo de almacenamiento, presentan dos tipos de respuesta respecto a la capacidad de éstos para regenerar cultivos. *D.salina* e *I.galbana* pierden a los pocos días de ser almacenadas su capacidad de regeneración de cultivos, la primera se afecta más por el proceso de concentración, mientras que en la segunda se afecta más por el propio almacenamiento. Asimismo, en ambas existe una relación inversa entre la viabilidad de los lotes almacenados y el grado de concentración celular de los mismos. Por otro lado, *T.suecica* y *N.gaditana* muestran mucha mayor resistencia y permanecen viables, en la primera de ellas, hasta los 190 días de almacenamiento en los concentrados sin tratamiento y en los almacenados en condiciones de hipersalinidad, y en el segundo caso hasta los 284 días en los concentrados tratados con antibióticos.

La citometría de flujo es una técnica idónea, rápida y fiable para analizar la viabilidad de las poblaciones celulares mediante la utilización de fluorocromos específicos. En éste sentido hay que diferenciar el tipo de respuesta de la especie *N.gaditana*, opuesta a la de las otras especies, por sus especiales características de permeabilidad de la pared celular.

COMENTARIOS FINALES.

Los pobres resultados obtenidos con *D.salina* e *I.galbana* supone un estímulo para profundizar en la investigación en estas dos especies de reconocido interés desde el punto de vista tanto industrial como comercial.

Desde una perspectiva global, la biomasa procedente de las microalgas marinas, ya sea para su utilización como alimento en Acuicultura o para su aplicación en el campo de la Biotecnología, ofrece la posibilidad de almacenamiento en condiciones de conservación de la viabilidad celular durante meses. En cada especie deben ser estudiadas las condiciones idóneas de colecta y almacenamiento, si bien en éste estudio se pone de manifiesto técnicas de detección de la viabilidad celular rápidas y fiables que pueden ser aplicadas en cada caso como indicadores del grado de idoneidad de la biomasa algal conservada.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Publicación realizada por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía con el nombre “Obtención de biomasa concentrada de microalgas marinas para su utilización como alimento larvario de especies marinas”.

15. PROYECTO: ACLIMATACIÓN Y ENGORDE DE PULPO (*Octopus vulgaris*) Y SEPIA (*Sepia officinalis*) BAJO DISTINTAS CONDICIONES Y SISTEMAS DE CULTIVO. OBTENCIÓN DE PUESTAS Y PRODUCCIÓN DE POSTLARVAS.

AÑO:

Comienzo del plan: 1999
Finalización del plan: 1999

OBJETIVOS:

El presente proyecto persigue como objetivo principal la aplicación directa de los conocimientos actuales en el cultivo de pulpo (cultivo principal) y sepia (cultivo secundario) para diversificar la producción acuícola en la zona Suratlántica.

Este objetivo general se desglosa en:

1º- Ensayo de densidades y sistemas de cultivo:

Pulpo:

Determinación de tasas de crecimiento de los ejemplares alimentados con presas naturales, estabulados en tanques de fibra y en jaulas dispuestas en una estructura flotante situada en un estanque de tierra.

Sepia:

Determinación de tasas de crecimiento de los ejemplares alimentados con presas naturales, estabulados en tanques de fibra y tanque de hormigón, a distintas densidades de cultivo y con diferentes renovaciones de agua, con alimento natural.

2º- Producción y alimentación de paralarvas. A partir de puestas producidas por los individuos anteriormente cultivados, se determinará la tasa de crecimiento y supervivencia de paralarvas de pulpo en tanques de preengorde, alimentadas con presas naturales (zooplancton) obtenidas del medio natural.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Delegación Prov. de Cádiz.
Centro: CICEM "El Toruño".

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: José Luis.
Apellidos: Muñoz Pérez.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se realiza en las instalaciones del CICEM "El Toruño", y es desarrollado por el personal adscrito a este Centro.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología. Pulpo:

Captura de pulpos

Los pulpos se capturan desde una embarcación al efecto mediante un sistema de pesca artesanal denominado “chivo” o pulpera. Los individuos capturados son mantenidos en tanques provistos de aireación y refugios de PVC hasta llegar a las instalaciones de “El Toruño”.

Estabulación y engorde en tanques

Después de un acondicionamiento previo en el laboratorio se estabulan en cuatro lotes homogéneos, con dos réplicas cada uno, sin separación de sexos.

Los tanques utilizados para el engorde son cuadrados de 1,4 m de lado. Para evitar fugas se llenan de agua 50 cm y se recubren con un tejido poroso. El circuito de agua es abierto. Se dota de refugios a los ejemplares. La temperatura del agua oscila entre los 11°C y los 15°C y la salinidad se mantiene entre 31,5 y 37,7 ppt.

La alimentación consiste en un 75% de cangrejos y un 25% de peces varios, suministrados en distintas dosis según los pesos iniciales.

Mensualmente se realizan muestreos de peso en todos los individuos. El periodo de engorde tiene una duración de 90 días, hasta que se observa un comportamiento reproductivo, momento en el cual, se reestabulan los lotes.

Los parámetros de crecimiento que se han considerados son los siguientes:

- Peso total del individuo a lo largo del periodo de engorde.
- Eficiencia de conversión.
- Tasa de crecimiento específico (G).

Engorde en jaulas

Dos lotes de 12 ejemplares de pulpo cada uno, son estabulados en jaulas cilíndricas sumergidas en la reserva de agua que el Centro dispone para el abastecimiento de las instalaciones. En el interior de dichas jaulas se disponen 12 refugios en dos niveles: 6 en el fondo y distantes 50 cm, y otros 6 a 60 cm de altura y también equidistantes 50 cm. El volumen total de las jaulas sumergidas es de 0,869 m³.

La ración diaria de alimento ha consistido en un 75% de cangrejos y un 25% de peces.

Cultivo larvario

Cuando se observa un comportamiento de intento de cópulas en el proceso de engorde, se forman cuatro lotes de reproductores compuestas por 4 machos y 4 hembras de pesos similares, en tanques independientes de las mismas características que los utilizados en los de engorde.

Como la puesta se realiza sobre la parte superior de la oquedad de los refugios, y en previsión de posibles rodamientos, éstos son estabilizados mediante prolongaciones transversales fijadas con gomas elásticas.

Una vez observada la puesta, refugios y hembras son introducidos en tanques de incubación de 100 cm de alto por 50 cm de diámetro en circuito abierto y provisto de aireación. Las paralarvas recién nacidas migran inmediatamente a la superficie del agua del tanque donde son recogidas en el interior de un tamiz.

Las paralarvas eclosionadas son introducidas en tanques cilíndricos de 300 l de capacidad, con fotoperiodo natural, variando la salinidad entre 36,5 y 37,5 ppt y la temperatura entre 19,5 y 21,8°C. Se ensayan 3 densidades de cultivo: 10, 25 y 50 larvas/l.

Resultados. Pulpo:

Captura

Se capturan en el medio natural 150 ejemplares de pesos variables entre 0,4 y 1,4 Kg.

Estabulación y engorde en tanques

En la siguiente tabla se resumen los valores de los parámetros estudiados:

	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
Nº Ejemplares	32	16	16	32
Peso inicial medio (g)\pmdn	1393 \pm 374	1250 \pm 348	443 \pm 190	631 \pm 239
Peso final medio (g)\pmdn	3198 \pm 758	2863 \pm 768	1468 \pm 545	1565 \pm 555
Incremento medio diario (g)	20	17,9	11,4	10,4
Eficiencia de Conversión (%)	21,4	19,2	18,9	13,2
Tasa de Crecimiento Específico (G)	0,83	0,83	1,20	0,90
Carga inicial media (K/m³)	22,2	10,0	3,5	10,0
Carga final media (K/m³)	43,2	20,0	10,2	21,8
Supervivencia (%)	84,4	87,5	87,5	87,5

En los grupos 1 y 2 los crecimientos experimentados son similares, sin que al parecer tenga ninguna influencia las cargas iniciales ni las densidades de cultivo consideradas.

La menor biomasa del grupo 3, unida a un menor peso inicial, parece influir en su crecimiento, que es mayor que en el resto de los grupos.

La supervivencia al final del engorde es similar en todos los grupos excepto en el grupo 1 que fue ligeramente inferior, hecho que era de esperar dada la carga y el peso medio final alcanzado.

Engorde en jaulas

Debido a las numerosas bajas que se han ido observando en las limpiezas diarias y en sucesivos muestreos semanales, la experiencia se dio por finalizada al mes del inicio.

En el siguiente cuadro se resumen las características iniciales y finales del cultivo:

	GRUPO 1		GRUPO 2	
Nº Ejemplares	12		12	
Peso inicial medio (dn)	1325	(155)	1397	(144)
Peso final medio (dn)	1810	(270)	1835	(315)
Incremento medio diario (g)	17,3		15,6	
Carga inicial (Kg/m³)	18297		19292	
Carga final (Kg/m³)	5560		4075	
G (%)	1,11		0,96	
Supervivencia (%)	25		17	

La Eficiencia de Conversión no ha sido calculada debido a los casos de canibalismo observados.

Inicialmente, la ración diaria de alimento ha sido del 3% de la biomasa total del cultivo, pero al detectarse casos de canibalismo se incremento la ración diaria de alimento al 7%. Aún así, los fenómenos de canibalismo han seguido ocurriendo.

Cultivo larvario

Una vez fecundadas las hembras, la totalidad de las mismas realizan la puesta en los refugios introducidos al efecto.

De las 16 hembras reproductoras, 4 mueren por causas desconocidas después de haber realizado la puesta, por lo que los huevos fijados en la parte superior del habitáculo son introducidos en recipientes rectangulares donde se simula una incubación natural, consiguiendo de esta manera, que las 4 puestas eclosionen.

Seguidamente se muestran las condiciones de reproducción:

Nº de hembras reproductoras:	16 (4 mueren tras la puesta)
Peso medio:	1,8±0,3 Kg
Periodo de puesta:	Abril – Junio
Características del agua:	Temperatura: 20,6±1,5°C Salinidad: 37,9±0,8 ppt
Duración del desarrollo embrionario:	45±15 días
Periodo de eclosión:	15±3 días
Nº de paralarvas eclosionadas por hembras:	237.000±35.000

La alimentación de las paralarvas eclosionados ha consistido:

- A lo largo de la primera semana en nauplios de artemia de unas 500µ enriquecidos con fitoplancton a una densidad de 1 nauplio/ml.

- A partir de la segunda semana se ensayan tres tipos de alimentos: metanauplios de Artemia, mysis de camarón y zoeas de cangrejo (esta última dieta fue desechada debido a que atacan a las paralarvas de pulpo cuando adquieren un tamaño similar a ellos).

- Se probó una alimentación de las paralarvas con pienso artificial, provocando una degradación de la calidad de las aguas que causó la muerte de todas las paralarvas en 24 horas.

La supervivencia a lo largo de las 5 semanas fue la siguiente:

Primera semana:	70%
Segunda semana:	37%
Tercera semana:	24%
Cuarta semana:	8%
Quinta semana:	0%

El mayor tamaño medio medido ha sido de $4,3 \pm 0,4$ mm de longitud total al final del cultivo, no habiendo diferencias de crecimiento entre los distintos ensayos.

Conclusiones. Pulpo:

Cuando los pulpos son estabulados en tanques, los valores de los parámetros de crecimiento observados durante la fase de engorde son similares a los obtenidos en otros estudios en condiciones parecidas, si bien, la estabulación separada de machos y hembras mejoraría los crecimientos.

En el engorde en jaulas, los fenómenos iniciales de canibalismo se producen tanto por la alta carga de estabulación como por el menor acceso que los ejemplares refugiados en el nivel superior de la jaula tienen sobre el alimento suministrado, que irremediablemente cae al fondo, siendo consumido por ejemplares del nivel inferior.

Los valores registrados tanto de temperatura como de salinidad influyen de forma decisiva sobre la supervivencia.

Las características biométricas de las puestas obtenidas mediante cultivo larvario, son similares a las descritas por otros autores para esta especie.

Metodología. Sepia:

Se recogen varias puestas realizadas en restos vegetales de aguas someras de la zona. En total han sido 1.460 huevos agrupados en racimos de 270 a 400 huevos cada uno.

Los racimos son mantenidos en tanques de fibra de $0,1 \text{ m}^3$ con buena aireación y circuito abierto, a una temperatura de $19,4 \pm 1,2^\circ\text{C}$ y una salinidad de $34,6 \pm 1,4$ ppt. Las larvas recién eclosionadas se recogen y estabulan en tanques aparte.

La densidad de estabulación de las larvas es de 250 ind/m^2 en tanques de fibra de 100×50 cm de superficie y una altura de agua de 8 cm, sin sustrato y en circuito abierto, a una temperatura de $20,3 \pm 1,4^\circ\text{C}$ y a una salinidad de $36,1 \pm 1,2$ ppt. Hasta la total eclosión se han utilizado 10 tanques a razón de 125 larvas por tanque.

Resultados. Sepia:

Se desconoce el tiempo transcurrido desde la puesta en el medio natural hasta la recolección. La eclosión de las larvas se produce a los 21 días de incubación. El tamaño de las larvas es de 5 mm de LM y de 100 mg de peso húmedo. La tasa de eclosión ha sido del 84%.

Desde el primer día de estabulación, las larvas son alimentadas “*ad libitum*” con *Artemia*, y distintas clases de invertebrados vivos. Se observa ataques exitosos y aceptabilidad en presas como anfípodos, estados larvarios de camarones, pequeños coleópteros acuáticos, larvas de mosquitos y larvas de peces. Todas las presas tienen un tamaño inferior al 75% de la longitud total de la LM de la larva.

Al cabo de las 3 semanas, el alimento suministrado incluía presas mayores, como alevines de peces y camarones de tamaño ligeramente inferior al de las larvas de la sepia (10 mm).

Después de 6 semanas de cultivo, los juveniles son estabulados en un estanque de tierra de unos 1.000 m² para su cultivo extensivo. El sistema de muestreo empleado y la coexistencia de otros animales posibles predadores en el cultivo extensivo (lubinas, doradas, anguilas) hizo que no se pudiese estimar la supervivencia final.

Conclusiones. Sepia:

A la vista de los resultados obtenidos en esta primera experiencia, y viendo las altas supervivencias de las larvas de sepia alimentadas con presas naturales, se plantea la posibilidad de realizar cultivos de zooplancton y de invertebrados como presas potenciales.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Cataluña:

- **1996:** Desarrollo de experiencias encaminadas a la cría experimental de pulpo (*Octopus vulgaris*) hasta el tamaño denominado “popet”.
- **1998:** Cultivo larvario y juvenil del pulpo. *Octopus vulgaris*.
- **1999:** Cultivo integral del pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) en el Mediterráneo: reproducción y cultivo larvario. (Proyecto en coordinación con la Comunidad Autónoma de Murcia).

Comunidad Autónoma de Murcia:

- **1999:** Cultivo integral del pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) en el Mediterráneo: reproducción y cultivo larvario. (Proyecto en coordinación con la Comunidad Autónoma de Cataluña).

COMENTARIOS FINALES.

La fuerte demanda de cefalópodos que se está produciendo por parte del consumidor en los últimos años, el descenso de las capturas y la necesidad de diversificar la producción acuícola con nuevas especies, unido al alto valor económico que se está registrando en las lonjas, hace que el cultivo intensivo de pulpos y sepias sea de gran interés para el sector productor.

16. PROYECTO: CULTIVO DE LA CORVINA (*Agryrosomus regius*). (Proyecto coordinado con la CA de Baleares).

AÑO:

Comienzo del plan: 1999

Finalización del plan: 2001

OBJETIVOS:

- Determinación de las tasas de crecimiento en engorde en jaulas de alevines provenientes del medio natural con diferentes dietas y su adaptación a ellas (pescado triturado, pienso semihúmedo OMP 10:10:1, pienso extrusionado comercial). Se realizará en Baleares (en la Estación de Acuicultura del Puerto de Andratx, Dirección General de Pesca-Gobierno Balear).
- Determinación de las tasas de crecimiento en tanques de preengorde y estanques de tierra de juveniles provenientes del medio natural con diferentes dietas y adaptación a ellas (pescado triturado, pienso semihúmedo OMP 10:10:1, pienso extrusionado comercial). Se realizará en Andalucía (en el CICEM "El Toruño", Dirección General de Pesca – Junta de Andalucía).
- Crear un futuro stock de reproductores con los juveniles utilizados para las pruebas de engorde para poder plantear, en un futuro, pruebas en cautividad, tanto en Baleares como en Andalucía.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Dirección General de Pesca Marítima y Cultivos Marinos.

Centro: Estación de Acuicultura del Port d'Andratx.

Departamento: Recursos Marinos y Acuicultura.

Organismo. Consejería Agricultura y Pesca, Delegación Provincial Cádiz.

Centro: Centro Investigación y Cultivo Especies Marinas "El Toruño".

COORDINADOR DEL PLAN EN BALEARES:

Nombre: Elena

Apellidos: Pastor Gracia

COORDINADOR DEL PLAN EN ANDALUCÍA:

Nombre: Alfonso

Apellidos: Sánchez de Lamadrid Rey.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La parte del proyecto desarrollado en la CCAA de Baleares, tiene lugar en las jaulas flotantes de la Estación de Acuicultura del Puerto de Andratx en Mallorca.

La parte del proyecto desarrollada en Andalucía tiene lugar en las instalaciones de “El Toruño”.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Los juveniles necesarios para realizar el estudio se capturan en la desembocadura del Guadalquivir. Tras la captura, los peces pasarán una cuarentena de aproximadamente 10 días de duración en las instalaciones de “El Toruño”, tras la cual, la mitad de los peces serán transportados hacia Baleares para el inicio de las pruebas.

En el Puerto de Andratx el lote de corvina se divide en dos, estabulándose en dos jaulas cuadradas de 2,5 m de lado y 12 m³ de volumen.

La alimentación se realiza “ad libitum” con pescado y calamar fresco o congelado, suplementado en un principio con vitamina C y posteriormente con un premix vitamínico de la casa TROUW.

El seguimiento se realiza mediante el muestreo de los dos lotes cada 30 días, determinándose el peso y la talla del 50% de la población previa anestesia con MS222. Se calcula el índice de conversión del alimento (I.C.) y la tasa instantánea de crecimiento en peso (Gp).

Resultados:

El comienzo del proyecto se vio retrasado un año debido a la escasez de corvinas en los canales de riego de la marisma del Guadalquivir, lugar donde se había previsto capturarlos. La escasez de corvinas tuvo lugar debido a las condiciones meteorológicas de la primavera de 1999, que provocaron una bajada de salinidad en la zona y por lo tanto una ausencia de corvinas.

Debido a la falta de ejemplares para el comienzo de la experiencia, tuvo lugar la captura de corvinas mediante pesca de arrastre en la desembocadura del Guadalquivir. Se capturaron un número considerable de corvinas, aún así la experiencia tuvo resultados negativos al presentarse una mortalidad del 100% de los ejemplares causada por la hiperinflación de la vejiga natatoria durante su captura. Gracias a estas corvinas muertas, se pudo determinar la alimentación de esta especie en el medio natural que se basa fundamentalmente en boquerones y gambas. Los pesos de los mismos oscilaban entre los 12 y los 126 g.

En otoño del 2000 se consiguieron pescar 109 juveniles de corvina y 2 adultos en los canales de riego de la empresa Pesquerías Isla Mayor. Tras la pesca de los mismos, se mantuvieron en un tanque en cautividad sin alimentación y sin ningún tratamiento. En noviembre del 2000 fueron trasladados a las instalaciones de “El Toruño”, manteniéndose dos lotes, el de juveniles y el de adultos. Fueron sometidos a una cuarentena y a tratamientos profilácticos a base de formol. Se fue adaptando a los peces a la alimentación en cautividad con pescado fresco (boquerón), calamar y cangrejo. A los juveniles el alimento se les daba triturado.

Se llevaron a cabo dos muestreos de las corvinas, observándose que los pesos medios eran de 186,9 g en enero y 193,8 g en marzo en los juveniles. Los adultos pesaron 4.160 g y 6.270 g en marzo, observándose una mayor dificultad a la aclimatación a la cautividad.

El 28 de marzo del 2001 murió la corvina adulta (hembra madura), de menor tamaño, observándose por el estómago vacío y el bajo índice hepatosomático (0,6%) una caquexia por falta de adaptación al alimento.

En abril del 2001 el lote se dividió en dos y 50 individuos de peso medio 111,8 g se trasladaron a Baleares para el inicio del engorde en jaulas flotantes. Los individuos llegaron al Puerto de Andratx en perfectas condiciones.

Los resultados obtenidos por los dos lotes muestran que tanto el I.C. (Índice de Conversión) como el Gp (tasa instantánea de crecimiento en peso) son bastante similares.

En la jaula P7 se obtiene un incremento de peso de 232,5 g en apenas tres meses (29/03/01-21/06/01), peso ligeramente inferior al conseguido en la jaula P8, 255,4 g, en ese mismo periodo. Por el contrario, para ese mismo periodo de tiempo el incremento de talla de los individuos pertenecientes a la jaula P7 (114 mm) es ligeramente superior a la talla alcanzada por los individuos pertenecientes a la jaula P8 (88,3 mm).

Los peces se han adaptado perfectamente a las condiciones de estabulación en jaulas flotantes, no habiéndose producido por el momento, ninguna baja.

Conclusiones:

Resta un largo tiempo para que los peces actualmente estabulados alcancen la talla de reproductores.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Andalucía:

- **1993:** Formación de un banco de reproductores de tres especies autóctonas de interés comercial (hurta, corvina y rombo).
- **1999:** Cultivo de la corvina.

COMENTARIOS FINALES.

Las pruebas realizadas en Cádiz, en el CICEM "El Toruño" han demostrado que las corvinas soportan condiciones desfavorables (hasta 45 ppt y 26 °C).

No existe bibliografía con respecto al mantenimiento en cautividad de ejemplares adultos y juveniles de corvina, salvo una experiencia realizada en 1997 por Calderón *et al* en la que se concluye con éxito el crecimiento de juveniles, no siendo así en reproductores.

17. PROYECTO: DOMESTICACIÓN DE LA HURTA (*Pagrus auriga*). CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN

AÑO:

Comienzo del plan: 1999

Finalización del plan: 2000

OBJETIVOS:

1. Aclimatación de las hurtas a la cautividad (domesticación).

Con este objetivo se pretende conocer las condiciones en las que se puede mantener las hurtas en cautividad. Por un lado, determinar su comportamiento en cautividad, así como las tasas de crecimiento de individuos jóvenes, de tal forma que se pueda comparar con otras especies de espáridos que se cultivan en la actualidad.

2. Conocer de la evolución gonadal de la hurta en cautividad.

Mediante este objetivo se complementarán los conocimientos sobre reproducción natural de la hurta, que ya se han establecido en estudios previos en las costas de Cádiz, permitiendo afinar en el periodo de puesta exacto y poder establecer el momento más idóneo para realizar la inducción de la puesta mediante tratamientos hormonales.

3. Inducción de la puesta mediante tratamientos hormonales.

Una vez determinados los niveles de hormonas esteroides y su relación con el desarrollo gonadal, se tratará de conseguir la inducción de la puesta en esta especie mediante tratamientos hormonales con GnRH y análogos, que permitirá la obtención de ovocitos maduros para su fecundación en los tanques de cultivo.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.

Centro: CICEM "El Toruño".

Departamento: Producción.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Salvador.

Apellidos: Cárdenas Rojas.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se realiza en las instalaciones del CICEM "El Toruño", y es desarrollado por el personal adscrito a este Centro.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Las primeras muestras se recogen el 26 de octubre de 1999 y con una periodicidad mensual se realizan muestreos hasta el 29 de septiembre de 2000. Los ejemplares son marcados con marcas electrónicas intramusculares y marcas en T para su identificación individualizada en cada uno de los muestreos.

Una vez identificados por su marca electrónica son pesados y medidos antes de proceder a la extracción de sangre.

La extracción de sangre se realiza mediante punción en la vena caudal.

Las muestras de sangre son centrifugadas en una centrífuga de mesa a 4°C y 3.000 rpm durante 15 minutos. El plasma es cuidadosamente separado y colocado en tubos Eppendorf limpios, etiquetados y congelados a -20°C para su posterior utilización.

El método de detección de los esteroides gonadales, testosterona (T) y estrógenos (E₂)(17β-estradiol), ha sido el ELISA, método validado en especies como la lubina.

Las muestras destinadas a su estudio histológico son sometidas a una metodología rutinaria de fijación, inclusión, sección y realización de técnicas histomorfológicas.

Resultados:

Se parte de una población inicial de 28 ejemplares de sexo desconocido, mantenidos en cautividad en condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura, en aguas de mar circulante y alimentación *ad libitum*. Únicamente sobrevivieron 21 ejemplares a todos los puntos de muestreo. Con cinco de los ejemplares que murieron se realizó el análisis histológico del estado gonadal.

Se realizan 11 muestreos en los cuales se mide la longitud furcal media (LFm), longitud total media (LTm) y peso medio (Pm). En el siguiente cuadro se muestra la LFm, LTm y Pm mínima y máxima de todos los muestreos.

MUESTREO 1 (26 de octubre de 1999)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
30,3 cm	34,4 cm	982,5 g	Muestreo de 24 ejemplares
MUESTREO 2 (26 de noviembre de 1999)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
34,9 cm	39,5 cm	1103 g	Se añaden 4 ejemplares más. Muestreo de 28 ejemplares
MUESTREO 3 (23 de diciembre de 1999)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
30,0 cm	33,8 cm	945 g	Muerte del ejemplar N°8. Muestreo de 27 ejemplares
MUESTREO 4 (20 de enero de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
30,1 cm	33,5 cm	925 g	Muestreo de 27 ejemplares
MUESTREO 5 (25 de febrero de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
30,4 cm	34,11 cm	929 g	Un animal con infección ocular.
MUESTREO 6 (24 de marzo de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
31,2 cm	34,6 cm	956 g	Dos nuevas infecciones oculares. Un animal (N° 25) queda tuerto.
MUESTREO 7 (28 de abril de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
30,7cm	32,7 cm	962,4 g	Muestreo de 23 ejemplares. Muerte de 4 animales
MUESTREO 8 (25 de mayo de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
31,5 cm	34,85 cm	997 g	
MUESTREO 9 (30 de junio de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
31,6 cm	35,8 cm	997 g	Muestreo de 22 ejemplares. Muerte de 1 ejemplar.
MUESTREO 10 (8 de agosto de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
31,9 cm	36,1 cm	1002 g	Muestreo de 21 ejemplares. Muerte de 1 ejemplar. Dos hurtas con infección ocular
MUESTREO 11 (29 de septiembre de 2000)			
LFm	LTm	Pm	Observaciones
33,2 cm	37,8 cm	1115 g	Muestreo de 21 ejemplares

Los valores de testosterona a lo largo de todo el estudio oscilaron entre los 0,03ng/ml (ejemplar 11, mes de junio de 2000) y 2,72 ng/ml (ejemplar 3, octubre de 1999), siendo la media total de 0,8 ng/ml. Los animales han mostrado un comportamiento bastante repetitivo respecto a los niveles de testosterona. De forma general, se observan los niveles más elevados en el primer muestreo (1,52 ng/ml de media). A continuación los niveles descienden, presentando una ligera elevación en el mes de febrero (1,13 ng/ml de media) y abril (0,81 ng/ml de media) de 2000 y, obteniéndose los mínimos del ciclo a finales de junio de 2000 (0,40 ng/ml de media). Se inicia una nueva subida en los niveles de testosterona en agosto (0,59 ng/ml de media) y septiembre (0,75 ng/ml de media) de este mismo año.

El grupo analizado muestra unos valores muy bajos de estradiol, en su mayoría fuera del rango de detección del ensayo que se ha desarrollado. Los valores mínimos de estradiol se observaron en los meses de febrero (0,0153 ng/ml) y marzo (0,071 ng/ml) de 2000, mientras que los máximos se observaron en junio de 2000 (0,038 ng/ml), justo antes de empezar el periodo de puesta y en septiembre de 2000 (0,05 ng/ml). Aún así, estas diferencias no son significativas y los valores de estradiol obtenidos en la hurta son tan bajos que deben considerarse niveles basales propios de animales inmaduros.

La principal causa de muerte parece estar relacionada con alguna infección ocular inicial y que desarrolla una septicemia bacteriana y/o vírica.

El análisis histológico de 5 ejemplares muertos en los meses de marzo (3), mayo (1) y junio (1), revelan que sus gónadas no han progresado a lo largo del ciclo reproductivo como sería de esperar. Los 5 ejemplares eran hurtas hembras. Únicamente el ejemplar 22, de gran tamaño, presentaba en su gónada durante el mes de marzo un número relevante de ovocitos tempranos de vitelogénesis.

Conclusiones:

Los ejemplares de hurta analizados son todos hembras. A esta afirmación se llega tras el estudio de la longitud de los mismos, el análisis histológico de las gónadas y los perfiles y niveles de esteroides.

Tras el análisis de los niveles de estradiol y testosterona, así como de la talla y los análisis histológicos, se llega a la conclusión de que la mayoría de los animales son inmaduros, no habiendo experimentado el proceso de pubertad.

Los animales de mayor tamaño (500-2.500 g) que han experimentado el proceso de pubertad, no han progresado en su ciclo vitelogénico.

El ciclo reproductivo de esta especie no ha avanzado de la forma esperada.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Andalucía:

- **1993:** Formación de un banco de reproductores de tres especies autóctonas de interés comercial (hurta, corvina y rombo).
- **1994:** Formación de un banco de reproductores de tres especies autóctonas de interés comercial (hurta, corvina y rombo).

COMENTARIOS FINALES.

- Es necesario adecuar las condiciones de confinamiento en tanques de las hurtas, tratando de que se aproximen, en la medida de lo posible, a las condiciones ambientales del medio natural. Este hecho, minimizaría el estrés y facilitaría el éxito del cultivo. En este sentido, el cultivo de hurtas en tanques al aire libre y la manipulación del fotoperiodo y la temperatura pueden contribuir al éxito de su reproducción.

- El estrés de las hurtas puede ser debido al poco tiempo de aclimatación a la cautividad y, por lo tanto, los niveles de estradiol o incluso de testosterona no se corresponden con los valores fisiológicos normales. La solución sería trabajar con estos animales tras un periodo mayor de aclimatación (2 ó 3 años en tanques).

- Es necesario comparar los niveles de esteroides en animales inmaduros con los de animales adultos de gran talla para determinar si los niveles de esteroides son característicos de la hurta o son el resultado de la inmadurez de los resultados.

18. PROYECTO: MEJORAS PRÁCTICAS EN EL PREENGORDE DE DORADA: CULTIVO EN JAULAS (Proyecto coordinado con la CA de Baleares)

AÑO:

Comienzo del plan: 1999

Finalización del plan: 2000

OBJETIVOS:

El objetivo de este trabajo es determinar los crecimientos y supervivencias en el preengorde de doradas entre 0,5 y 20 g en jaulas de 15-50 m³ de capacidad en las siguientes condiciones:

- Preengorde de dorada en jaulas de 50 m³ en un puerto o abrigo en la costa. Alimentación en continuo durante las horas de luz mediante comederos automáticos de reloj. (Estación de Acuicultura del Puerto de Andratx; Dirección General de Pesca del Gobierno Balear).
- Preengorde de dorada en jaulas flotantes de 15 m³ dentro de estanques de tierra. Alimentación en continuo durante las horas de luz. (C.I.C.E.M. El Toruño, Andalucía).
- Preengorde de dorada en corrales de 50 m³ de capacidad en estanques de tierra. Alimentación en continuo durante las horas de luz. (C.I.C.E.M. El Toruño, Andalucía).
- Siembra directa en estanque de tierra de 1.000 m³ de capacidad. Alimentación en continuo durante las horas de luz (C.I.C.E.M. El Toruño, Andalucía).

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Dirección General de Pesca Marítima y Cultivos Marinos.

Centro: Estación de Acuicultura del Port d'Andratx.

Departamento: Recursos Marinos y Acuicultura.

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca, Delegación Provincial Cádiz.

Centro: Centro Investigación y Cultivo Especies Marinas "El Toruño".

COORDINADOR DEL PLAN EN BALEARES:

Nombre: Elena

Apellidos: Pastor Gracia.

COORDINADOR DEL PLAN EN ANDALUCÍA:

Nombre: Alfonso

Apellidos: Sánchez de Lamadrid Rey.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La parte del proyecto desarrollada en Baleares tiene lugar en las jaulas pertenecientes a la Estación de Acuicultura y fondeadas en el Puerto de Andratx en Mallorca.

La parte del proyecto desarrollada en Andalucía tiene lugar en las instalaciones de "El Toruño".

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología seguida en Baleares:

El preengorde se realiza en jaulas en el mar. En el Puerto de Andratx se tienen 4 jaulas circulares de 5,5 m de diámetro con una bolsa de red de 2 m + 1 m, con volumen de 50 m³. Los diámetros de malla utilizados fueron crecientes y adecuados al tamaño de los peces (4'5, 7'5, 15 mm de diámetro) cambiándose las bolsas de red cuando era necesario para permitir una buena renovación de agua. Las jaulas se cubrieron con una red antipájaros para evitar los efectos de estos predadores.

Se mide diariamente el oxígeno disuelto, la temperatura, la salinidad y el pH de lunes a viernes a las nueve de la mañana. La salinidad se mantuvo constante en torno a los 37 g/l y el pH en torno a 8,3-8,4.

El pienso utilizado es de la marca ProAqua de los tipos Óptima 1, Mini 1, Mini 1,5 y Mini 2. Según la tabla de alimentación recomendada por la marca de pienso y según el tamaño de los peces, se calcula la cantidad de pienso diario a distribuir teniendo en cuenta la temperatura del agua, el número de peces y su peso medio. El pienso ha sido distribuido diariamente mediante el uso de comederos de cuerda de forma continuada durante 12 horas.

Se realiza un muestreo de un máximo de 100 individuos cada 15 días. Una vez pesados, son devueltos al lugar donde habían sido capturados.

Se utilizaron 12.598 alevines de entre 0,72 y 1 g, que se repartieron, según su peso, en cuatro jaulas denominadas J4.c, J5.c, J6.c y J7.c:

- En dos jaulas 4.895 peces de 0,72 g/pez. Introducidos el 20/04/1999.
- En dos jaulas 1.179 peces de 1 g/pez. Introducidos el 05/05/1999.

A todos los peces se les pretende llevar a un peso de 20 g.

Metodología seguida en Andalucía:

Primera fase CICEM:

Se desarrolló entre los meses de Marzo y Julio del 2000. En esta fase se probaron diferentes densidades de peces y diferentes sistemas de cultivo, a fin de preparar la segunda fase del experimento:

- Tres corrales denominados C2a (5.794 peces de peso inicial 1,5 g), C3a (2.521 peces de peso inicial 6,2 g) y C4a (2.521 peces de peso inicial 3,1 g).
- Dos jaulas denominadas J1.a (3.600 peces de peso inicial 4,5 g) y J2.a (3.600 peces de peso inicial 0,86 g).
- Un estero denominado E5.a donde se introdujeron 4.040 peces de peso inicial 3,6 g.

En esta fase se cultivaron alevines hasta que alcanzaron los 20 g de peso.

Segunda fase CICEM:

Comenzó el 1 de agosto de 2000, a partir de los datos obtenidos en la fase previa se pasó al diseño de la segunda fase. Se utilizaron 15.000 peces de 1,12 gramos, repartidos entre tres corrales (denominados C2.b, C3.b y C4.b) y tres jaulas (denominadas J1.b, J2.b y J3.b), utilizando la misma carga de siembra en todos, 3.275 alevines en cada corral y 1.725 alevines en cada jaula.

El pienso utilizado es de la marca ProAqua de los tipos Óptima 1, Mini 1, Mini 1,5 y Mini 2 Según la tabla de alimentación recomendada por la marca de pienso y según el tamaño de los peces, se calcula la cantidad de pienso diario a distribuir teniendo en cuenta la temperatura del agua, el número de peces y su peso medio. El pienso ha sido distribuido diariamente mediante el uso de comederos de cuerda de forma continuada durante 12 horas.

Se realiza un muestreo de un máximo de 100 individuos cada 15 días. Una vez pesados, son devueltos al lugar donde habían sido capturados.

Se mide diariamente el oxígeno disuelto, la temperatura, la salinidad y el pH de lunes a viernes a las nueve de la mañana. La salinidad se mantuvo constante en torno a los 40,02 g/l y el pH en torno a 8,4.

Resultados:

Es el estero el que presenta una menor tasa de crecimiento (0,238), mientras el corral C3.b presenta la mayor tasa de crecimiento (0,39). No se tuvieron en cuenta los datos de la jaula J1.a ni del corral C3.a por no ser los datos fiables por una posible fuga de peces.

Se ha conseguido un Índice de Conversión de hasta 0,7 en jaulas en puerto (J7.c), mientras que la conversión mínima se ha alcanzado en la jaula J3.b, con un índice de 7,5, debido a que se estuvo alimentando a pesar de un escape de peces producido por la turbidez de las aguas. Los valores han oscilado en corrales entre 0,96 en el corral C3.b y 2,9 en el corral C3.a.

En cuanto a mortalidad se refiere, se comprobaron elevadas mortalidades en los primeros días tras la siembra. En el caso de Baleares, se cuantificaron las mortalidades iniciales, siendo éstas variables según el tipo de jaula. La supervivencia de doradas es superior al 80% en jaulas circulares, mientras que en jaulas próximas a la costa fue extremadamente baja, no superando en ningún caso el 30%.

En el caso de Andalucía, en la jaula J1.b se observó una mortalidad directa de 40 individuos en el momento de la siembra y un número mucho mayor en los días siguientes. La supervivencia en las jaulas y corrales en estero estuvo entre el 50 y el 60%. Los alevines sembrados directamente en el estero muestran una supervivencia del 87%.

La siembra directa en estero es la que más días requirió para alcanzar la talla de 20 g (97 días). Las jaulas en puerto, sembradas con peces de 0,72 g en abril, utilizaron 18 días más que las otras estructuras de cultivo en puerto y en estero (63 días de utilización media). Esto es debido al menor peso utilizado para la siembra de las jaulas en puerto y a las bajas temperaturas en abril en las aguas del puerto de Baleares.

Conclusiones:

El estero muestra la *menor tasa de crecimiento* debido a que, por un lado, se tardaron más de 30 días en ver ejemplares comiendo en el lugar de la alimentación, así como por el hecho de que al sembrarse al final de marzo las temperaturas del agua fueron menores que para los otros sistemas utilizados.

En las jaulas en estero se obtiene una *mayor tasa de crecimiento*, lo que se puede observar por el menor tiempo de uso de las instalaciones. Además, se observa que disminuye la tasa de crecimiento conforme aumenta la carga con el crecimiento de los peces.

El hecho de que los *índices de conversión* salgan elevados puede ser debido a la sobreestimación del número de peces en los diferentes experimentos; sólo en Baleares, con una baja mortalidad a lo largo del experimento, se han conseguido índices de conversión bajos.

Las supervivencias son mayores en jaulas en puertos que en jaulas en estero. En éstas hubo una menor supervivencia debido al estrés de la siembra y a la presencia de aves ictiófagas que fueron capaces de cazar peces a pesar de la presencia de redes. Es destacable la menor densidad de carga en las jaulas en puerto con respecto a los cultivos desarrollados en el C.I.C.E.M. en Cádiz. Ésta alta densidad ha originado problemas de canibalismo. Se llega a la conclusión de que el tamaño ideal para comenzar éste tipo de preengorde debe estar en tamaños mayores al gramo de peso.

En cuanto al manejo:

- El sistema más engorroso y con el que resulta más difícil trabajar es el estero, debido al elevado número de personas que han de intervenir, y a la cantidad de horas que se emplean en el despesque.
- No hay diferencias destacables entre los corrales y las jaulas ya que, prácticamente emplean el mismo número de personas y se tarda aproximadamente el mismo tiempo en la realización del despesque, aunque en la jaula se tarda algo menos. Es aconsejable en las jaulas, realizar ésta operación rápidamente, debido al estrés que sufren los peces.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Canarias:

- **1997:** Evaluación del empleo de fuentes proteicas de diverso origen en piensos de engorde de dorada (*Sparus aurata*).
- **1998:** Evaluación del empleo de fuentes proteicas de diverso origen en piensos de engorde de dorada. (Continuación de años anteriores).
- **1999:** Evaluación del empleo de fuentes proteicas de diverso origen en piensos de engorde de dorada. (Continuación de años anteriores).

Comunidad Autónoma de Andalucía:

- **1997:** Evaluación a escala piloto de una dieta inerte microencapsulada para el cultivo larvario de peces marinos (dorada y lenguado) desde la primera semana de vida hasta el uso de piensos comerciales.
- **1997:** Optimización y mejora del cultivo semiintensivo de dorada (*Sparus aurata*) en granjas marinas de San Fernando (Cádiz).
- **1997:** Estudio de alimentación y manejo de dorada (*Sparus aurata*) en estanque en régimen semiintensivo.

Comunidad Autónoma de Baleares:

- **1999:** Mejoras prácticas en el preengorde de dorada. Cultivo en jaulas. (Proyecto coordinado con la Comunidad Autónoma de Andalucía).

COMENTARIOS FINALES.

Se observa un crecimiento rápido, obteniendo en menos de dos meses la talla de 20 g en la mayor parte de los casos a partir de alevines de 1 g de peso (corrales y jaulas en estero y algunas jaulas en puerto). Sólo se produce retraso en el crecimiento en la siembra directa en el estero y las jaulas en puerto sembradas en abril, totalizando los tres meses de cultivo. En estos casos, el retraso se debe a que son lotes que se sembraron antes, con menores temperaturas en el medio. Además, en la siembra directa, se observa un retraso importante relacionado con la localización del lugar de alimentación.

Respecto a las supervivencias, con la siembra directa, se demuestra que usando peces de 6 g, habiendo erradicado previamente los predadores, y utilizando protección contra las aves, éstas son altas. En los otros sistemas la mortalidad es también baja aunque variable dependiendo de la ubicación y forma de la jaula en el puerto.

Se recomienda a las empresas interesadas en utilizar jaulas y corrales en estero para el preengorde, peces de al menos 2-3 g, que pueden aguantar mejor las operaciones de transferencia a los sistemas de preengorde en el medio natural.

19. PROYECTO: DESARROLLO DE UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA *Marteilia refringens*.

AÑO:

Comienzo del plan: 1999

Finalización del plan: 2001

OBJETIVOS:

- Identificación y secuenciación de regiones específicas del ADN de *Marteilia refringens* para ser utilizadas como marcadores moleculares. Estas regiones son, el espaciador de los genes que codifican para el ARN ribosómico, IGS y el ADN satélite.
- Diseño de *primers* de regiones de ADN específicas del parásito, tales como el IGS y el ADN satélite, para ser utilizados en el diagnóstico molecular de la enfermedad parasitaria.
- Obtención de sondas moleculares específicas de *Marteilia refringens* aptas para ser utilizadas a gran escala de forma sencilla y rutinaria para el diagnóstico de la enfermedad.
- Determinación del grado de sensibilidad del método de diagnóstico diseñado, mediante ensayos con diluciones del ADN del parásito y con ADN de ostras con diferente grado de infección.
- Localización de otros hospedadores específicos del parásito, aparte de la ostra plana y el mejillón, mediante la utilización de los *primers* y la sonda molecular previamente diseñada.

Datos de la institución:

Organismo: Universidad de Granada.
Centro: Facultad de Ciencias.
Departamento: Departamento de Genética.

Organismo: Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
Centro: C.I.C.E.M. "Agua del Pino".

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Manuel.
Apellidos: Ruiz Rejon.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se realiza en las instalaciones que dispone el Departamento de Genética de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS; METODOLOGÍA, RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIONES.

Metodología:

Las células de *Marteilia refringens* se obtienen a partir de ostras planas infectadas de forma natural procedentes del río Piedras (Huelva). La presencia del parásito en las ostras se determina mediante la visualización al microscopio de una pequeña muestra de glándula digestiva sometida a la tinción de VOE.

Una vez que se confirma la presencia del parásito, se procede a extraer el ADN de *Marteilia refringens*. Se obtiene ADN del músculo aductor de la ostra y de las glándulas digestivas de ostras sanas y de ostras infectadas con *Marteilia*.

Se localiza la región espaciadora intergénica, IGS, en el ADN de *Marteilia refringens* utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), usando diferentes parejas de *primers*. Se diseña un *primer* antisentido en el extremo 3' de la secuencia del gen 18S de *Marteilia refringens*, al que se llama Marte 18S-Int. Este *primer* se utiliza en la amplificación por PCR junto a un *primer* sentido llamado 26S-Cons.

El análisis de los resultados de PCR se realiza mediante electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio, utilizando el patrón de peso molecular 100 Base-Pair Ladder para estimar el tamaño del producto amplificado.

El producto amplificado mediante PCR se purifica y a continuación se liga el fragmento purificado al vector pGEM. Esta mezcla se incuba durante toda la noche a 4°C. Seguidamente, el producto ligado se utiliza para transformar bacterias competentes de la cepa JM109 de *E. coli*, según el protocolo descrito por la casa comercial Promega.

Las bacterias transformadas se siembran en medio LB sólido con ampicilina que contiene el sustrato cromogénico X-gal y el inductor IPTG, y se incuban a 37°C toda la noche. Tras seleccionar los clones recombinantes, se inoculan en medio LB líquido con ampicilina y se dejan crecer toda la noche a 37°C con agitación.

La extracción de los plásmidos se realiza utilizando el método de lisis alcalina. Tras la extracción del ADN plasmídico, se procede a la selección de clones recombinantes.

Los plásmidos recombinantes son secuenciados por el método Sanger, utilizando un kit comercial.

Para la secuenciación del ADN satélite, se utilizan *primers* localizados en la primera secuencia del vector, próximos a la diana de restricción en la que se ha incorporado el inserto.

La PCR que se utiliza para el diagnóstico molecular de *Marteilia refringens* se lleva a cabo con dos *primers* diseñados a partir de la secuencia de ADN del IGS de *Marteilia*: *primer* sentido MT-2 y *primer* antisentido MT-1. El análisis de los resultados de PCR se realiza mediante electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio, utilizando el patrón de peso molecular 100 Base-Pair Ladder para estimar el tamaño del producto amplificado.

Para la localización de ADN satélite de *Marteilia refringens*, se ha seguido un procedimiento estándar, consistente en la localización y purificación de una banda intensa de ADN sobre el rastro de ADN genómico digerido con enzimas de restricción, al ser analizado éste mediante electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio.

Con cada uno de los productos ligados al vector, se transforman bacterias competentes de la cepa DH5 α de *E. coli*, según el protocolo descrito por la casa comercial. Se lleva a cabo el crecimiento de las bacterias transformadas, la purificación de los plásmidos y la selección de clones recombinantes.

Para el análisis de Southern-blot, se parte de un gel de agarosa en el que previamente se ha cargado ADN de *Marteilia refringens*, ADN del músculo aductor de ostra plana y ADN de glándulas digestivas de esta misma especie infectadas por el parásito. Se lleva a cabo una electroforesis en el gel de agarosa. Una vez acabada, el gel se incuba durante 1 hora con solución de transferencia. Una vez transferido, se procede a la prehibridación de la membrana con tampón de hibridación durante 1 hora a 42°C en horno de hibridación.

La hibridación de la membrana con la sonda marcada se lleva a cabo a 42 °C durante toda la noche, en horno de hibridación.

El revelado de la hibridación se lleva a cabo mediante quimioluminiscencia.

Resultados:

*Región espaciadora intergénica IGS de *Marteilia refringens*.*

- **Caracterización del IGS de *Marteilia refringens*.**

Para localizar la región IGS en el ADN de *Marteilia refringens*, se ha utilizado la técnica de PCR, utilizando diferentes parejas de *primers*.

Los *primers* del gen 18S son específicos de *Marteilia refringens*, ya que se diseñaron a partir de la secuencia del gen 18S del parásito, del que se conoce la secuencia completa. Los *primers* del gen 28S son *primers* conservados.

Se han llevado a cabo diferentes experimentos de PCR, utilizando todas las combinaciones posibles entre los *primers* arriba mencionados:

- ❑ En dos ocasiones, con las parejas Marte28S/Marte18S y Marte28S/Marte18S-int, se han obtenido fragmentos de ADN amplificado de aproximadamente 2 kb. En ambos casos se pensó que podría tratarse del IGS de *Marteilia*. Sin embargo, el análisis de la secuencia de ADN de estos fragmentos determinó que se trataba de amplificaciones inespecíficas.
- ❑ La pareja de *primers* 26S-Cons/Marte 18S-Int dio lugar por PCR a un amplificado de aproximadamente 3 kb solamente en la muestra con ADN de *Marteilia* y no en las muestras con ADN de ostra. El análisis de una parte de la secuencia de ADN de esta banda de 3 kb ha dado como resultado una homología del 94% con la secuencia del 18S de *Marteilia refringens* depositada en la base de datos de Genbank. Igualmente la pareja de *primers* 26S-Cons/Marte 18S, ha dado lugar a un amplificado de un tamaño inferior a la banda obtenida por la pareja 26S-Cons/Marte18S-Int, lo cual se corresponde con los resultados esperados, al ser ésta la distancia que separa a un *primer* de otro dentro del gen 18S de *Marteilia refringens*.

Al analizar el resultado de la digestión de los plásmidos mediante electroforesis, se observan diferentes patrones de bandas en los distintos clones. Inicialmente se eligen los clones 37 y 31 para ser secuenciados, como representantes de los diferentes patrones de bandas observados. En ambos casos, la secuencia del extremo 18S presentó homología con el extremo 5' del gen 18S de *Marteilia refringens*, el 100% en el caso del clon 37 y el 98% en el caso del clon 31. La secuencia del extremo 28S presenta homología con secuencias de genes 28S de diversos organismos.

A partir de la región del IGS secuenciada más próxima al gen 18S de *Marteilia*, se diseña un *primer* interno, IN-1, para continuar secuenciando el espaciador intergénico. Para la obtención de la secuencia completa, ha sido necesario diseñar otros dos *primers* internos, IN-2 e IN-3, a partir de la secuencia de ADN que se va conociendo.

A excepción de los extremos, el resto de la secuencia no presenta homología con ninguna secuencia depositada en las bases de datos.

La secuencia completa del IGS de *Marteilia refringens* se está completando en estos momentos para enviar a las bases de datos internacionales.

- **Determinación de la especificidad del IGS de *Marteilia refringens* mediante Southern-blot.**

La señal de hibridación aparece solamente en los ADNs de *Marteilia refringens* y no en los de ostra, lo cual confirma que se trata de una secuencia específica del parásito.

- **Diagnóstico molecular de *Marteilia refringens* mediante amplificación de un fragmento de ADN parásito.**

A partir de la secuencia determinada de ADN del IGS de *Marteilia*, se han diseñado unos *primers*, MT-1 y MT-2, para comenzar a realizar ensayos de diagnóstico molecular de *Marteilia refringens* a partir de muestras de ADN de *Marteilia* y muestras de ADN de glándula digestiva de ostra infectada de parásito.

Se lleva a cabo un experimento de PCR en el que se amplifican muestras de ADN con *primers* SAS1 y SS2 del gen 18S de *Marteilia refringens* diseñados por Le Roux y con los *primers* MT-1 y MT-2. Los resultados son los siguientes:

- La cantidad de ADN amplificada por PCR con los *primers* MT-1 y MT-2 es mucho mayor que la amplificada con los *primers* SAS1 y SS2, lo que indica una mayor especificidad de los *primers* a partir de la secuencia de IGS de *Marteilia refringens*.
- Existe una alta sensibilidad de los *primers* MT-1 y MT-2 para detectar cantidades ínfimas de ADN de *Marteilia refringens*. Esta sensibilidad podría ser incluso mayor, debido a que no todo es ADN puro de *Marteilia refringens*, sino que hay contaminación con ADN de esperma de ostra.

Para determinar el límite de detección de los *primers* a partir de tejido, se realiza el siguiente experimento. Se mezcla ADN de músculo abductor de ostras sanas con cantidades decrecientes de ADN de *Marteilia refringens* purificada a partir de esporontes. Con estas muestras se lleva a cabo una PCR con los *primers* SAS1/SS2 y con los *primers* MT-1/MT-2. Los resultados son los siguientes:

- En estas condiciones experimentales, los *primers* SAS1/SS2 son menos sensibles que los *primers* MT-1/MT-2. Este resultado confirma la alta sensibilidad de los *primers* MT-1/MT-2 para detectar cantidades ínfimas de ADN de *Marteilia refringens*.
- Se ha secuenciado el fragmento de ADN comprendido entre los *primers* MT-1 y MT-2 en 5 de los clones recombinantes que portan IGS completo de *Marteilia refringens*. El análisis de la secuencia de este fragmento de la secuencia del IGS del parásito, ha sido estimada en un 2,3% a partir de los datos de este fragmento del IGS.

ADN satélite.

- **Localización de ADN Satélite de *Marteilia refringens*.**

Al digerir ADN *Marteilia refringens* con el enzima Hind III, se obtuvo una banda de ADN compuesta por fragmentos de 169 pb. El análisis de la secuencia de ADN de esta banda y su comparación con otras secuencias depositadas en la base de datos EMBL/GenBank ha dado como resultado que se trata de un ADN satélite, pero con una identidad muy alta (80%) a un satélite presente en el genoma de la ostra del Pacífico. La explicación a este resultado es la siguiente:

En el proceso de purificación de esporontes de *Marteilia refringens*, junto a estos esporontes, se purifica simultáneamente ADN de esperma de ostra. Esta "contaminación" de ADN de ostra es difícil de evitar, ya que los esporontes de *Marteilia refringens* y el esperma de ostra quedan en la misma interfase al centrifugar las muestras en gradiente de sacarosa. Si bien este ADN de ostra no parece interferir en las reacciones de PCR, no ocurre así en el caso de la búsqueda de ADN satélite

- **Caracterización molecular de ADN satélite de ostra.**

En lo referente al ADN satélite de *Ostrea edulis* se han analizado 8 de los clones de cada una de las familias de ADN satélite localizadas, la familia Hind III y la familia Bcl I. El análisis de estas secuencias ha permitido estimar la variación intraespecífica de cada uno de estos ADNs satélites. En ambos casos, la variación de la secuencia de ADN satélite entre los distintos individuos de la especie *Ostrea edulis* es del 10%.

Conclusiones:

- Se ha aislado y caracterizado la región espaciadora de los genes ribosómicos, el IGS, del genoma de *Marteilia refringens*.
- Se ha desarrollado un método de diagnóstico mediante la amplificación por PCR de un fragmento de 528 pb de IGS de *Marteilia refringens*, que se ha demostrado específico y más sensible que el propuesto por otros investigadores.
- Se ha tratado de identificar alguna familia de ADN satélite en el genoma de *Marteilia refringens* que pudiera ser utilizada como fuente para el desarrollo de un test específico de diagnóstico. Sin embargo no se ha obtenido ningún resultado satisfactorio hasta el momento.

- Se han aislado y caracterizado dos familias de ADN satélite en diferentes especies de ostras.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Cataluña:

- **1999:** Evaluación de presencia de *Bonamia ostrea* y *Marteilia refringens*.

COMENTARIOS FINALES.

El análisis de la región IGS es objeto de investigación ya que supone una de las regiones más variables a la hora de establecer comparaciones interespecíficas y, por tanto, es una parte del genoma muy útil para llevar a cabo técnicas de diagnóstico molecular.

Se están analizando las secuencias de dos familias de ADN satélite para utilizar los resultados obtenidos en comparaciones interespecíficas para futuros análisis, que podrían resultar útiles de cara a un estudio filogenético hospedador – parásito más amplio.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Comunicación oral en el XXII Congreso Internacional de la European Aquaculture Society, celebrado en Trieste (Italia) en octubre de 2002, con el título "Molecular diagnosis of *Marteilia refringens* based on IGS sequence".

Publicación en el IX Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Cádiz (España) en mayo de 2003 con el título "Un nuevo método de diagnóstico molecular de *Marteilia refringens* mediante PCR basada en el espaciador ribosómico intergénico (IGS).

Tesis Doctoral realizada en el Departamento de Genética, Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, por la doctorada Inmaculada López Flores en septiembre de 2003 con el título "Estudio molecular integrado de las ostras y de su parásito *Marteilia refringens* mediante el análisis del ADN repetido".

Publicación enviada a la revista Parasitology con el título "The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiation between *Marteilia* infecting oysters and mussels based on IGS sequence".