

# ANEXO IV

**JACUMAR**  
**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

**INFORME FINAL**

**Título: *Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad***

## **RESUMEN EJECUTIVO (MÁXIMO 10 PÁGINAS)**

### **1.- DATOS ADMINISTRATIVOS**

**TITULO:** Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad

**FECHAS DE REALIZACIÓN:** 2007-2010

**PRESUPUESTO TOTAL EN EUROS**

973.227,98 Euros

**DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO**

Nombre y Apellidos: Dolors Furones Nozal  
Organismo/ Centro: IRTA/ Sant Carles de la Ràpita  
Correo electrónico: dolors.furones@irta.cat

Durante el período 2007-2009 la coordinadora del proyecto fue Montserrat Ramon Herrero, debido a su cambio de lugar de trabajo del IRTA al IEO, a principios del 2010 renunció a la coordinación. Dolors Furones asumió la coordinación de la finalización del proyecto.

**Comunidades Autónomas participantes:** Andalucía, Baleares, Canarias, Cataluña, Ceuta y Galicia

### **2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL**

#### **2.1. OBJETIVOS:**

El objetivo ha sido la evaluación de las posibilidades de expansión del cultivo de mitílidos en España, tanto a través del estudio de nuevas zonas y/o métodos de cultivo (mar abierto), como de nuevas especies (*Perna perna*), junto con un estudio de la adecuación de algunas de las nuevas técnicas de cuantificación de biotoxinas para su implementación en los sistemas de control sanitario. Cada una de las comunidades autónomas participantes partía de un distinto grado de experiencia, el plan estaba compuesto por 6 subproyectos con sus objetivos específicos.

C. A. Andalucía. Subproyecto: Desarrollo y optimización del cultivo de mitílidos. Objetivo general: disponer de mayor información en cuanto a las características técnicas del cultivo de mejillón en la costa andaluza con el fin de poder desarrollar en las mejores condiciones posibles este cultivo e intentar prevenir posibles problemas, que se puedan plantear en futuro.

C. A. Baleares. Subproyecto: Cultivo de mitílidos: expansión a zonas abiertas. Objetivos generales: desarrollo de nuevas técnicas de cultivo de mejillón en

aguas abiertas y transferencia de la tecnología de cultivo en aguas abiertas al sector mariscador.

C. A. Canarias. Subproyecto: Viabilidad del Cultivo de *Perna perna* en Canarias. Objetivos generales: Caracterizar el ciclo reproductivo de la población de *Perna perna* en las Islas Canarias, evaluar los parámetros óptimos para el acondicionamiento del stock de reproductores, optimizar las técnicas de producción de semilla.

C. A. Cataluña. Subproyecto: Cultivo de mejillón en mar abierto mediante artefactos flotantes Objetivos: Analizar las posibilidades del cultivo de mejillón en mar abierto mediante el empleo de bateas flotantes, estudiando tanto aspectos de producción (crecimiento, mortalidad, composición bioquímica, etc.) como otros aspectos igualmente interesantes a tener en cuenta para el cultivo (biotoxinas, microbiología, parasitología).

C. A. Ceuta. Subproyecto: Determinación de las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en Ceuta. Objetivos: Obtener información básica que permita establecer las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en las aguas de la Ciudad de Ceuta y determinar la viabilidad técnica y económica del mismo. Se ha incluido un objetivo adicional no contemplado inicialmente: control de las enfermedades del mejillón cultivado en las bateas.

C. A. Galicia: Subproyecto: Evaluación del impacto de los métodos y niveles utilizados para el control de toxinas en el mejillón Objetivo: Evaluar el impacto económico de los métodos de control de toxinas en el cultivo de mejillón. Objetivos parciales: Evaluar el impacto de las diferentes técnicas de control. Evaluar el impacto de los niveles máximos permisibles.

### 2.3. METODOLOGÍA

Se ha estudiado el cultivo de 2 especies *Mytilus galloprovincialis* y *Perna perna* utilizando instalaciones existentes pero también probando nuevas estructuras para el cultivo en mar abierto como los sistemas "Floating-pipes" y la batea modular de Metaldeza. Se han estudiado las variables ambientales que influyen en el crecimiento y se han identificado las zonas aptas en diferentes zonas de costa. Se han estudiado las tasas de crecimiento, el rendimiento de la carne, reproducción y reclutamiento, la composición bioquímica, el estado inmunológico, la contaminación microbiológica y la presencia de bacterias potencialmente diarreicas. También se ha estudiado la composición tóxica y se ha analizado la repercusión que los cambios propuestos por la EFSA (European Food safety Authority) en relación a los límites legales de toxinas marinas puede tener en la producción de mejillón.

A continuación se detallan las líneas y tareas específicas en cada uno de los subproyectos, la metodología seguida en cada subproyecto se presenta con más detalle en cada uno de los anexos de este informe final.

C. A. Andalucía. Se han realizado campañas de muestreo mensuales e 3 de las instalaciones de cultivo autorizadas en Andalucía. Línea 1: Estudio de los índices de crecimiento y rendimientos de las poblaciones cultivadas mediante los diferentes sistemas y zonas geográficas. Línea 2: Identificación y cartografiado de las zonas óptimas para el cultivo. Línea 3: Determinación de formas de obtención de semilla. Línea 4: Biotoxinas nocivas para el cultivo de mejillón. Línea 5: Evaluación de la compatibilidad de cultivo mejillón con otras actividades de cultivo en mar abierto. Línea 6: Breve análisis de mercado.

C. A. Baleares: Línea 1. Delimitación de zonas aptas. Tarea 1. Examen de la cartografía de zonas potencialmente aptas para la instalación de jaulas de cultivo de peces. Tarea 2. Visitas a las zonas preseleccionadas e inmersión para asegurar que el tipo de fondo puede soportar un cultivo de mejillón. Línea 2. Solicitud de ocupación del Dominio Público Marítimo Terrestre. Tarea 1. Gestiones para solicitar la ampliación del objeto de la concesión de dominio público marítimo terrestre del arrecife artificial del área de protección de Illetes e isla del Sec (bahía de Palma) incluido en el área de protección de la punta negra y Molinar. Tarea 2. Elaboración del proyecto técnico de instalación de las estructuras de engorde de mejillón y solicitud de concesión para la ocupación de dominio público marítimo terrestre, según la normativa vigente en la legislación estatal y autonómica. Línea 3. Instalación de las estructuras de cultivo. Línea 4. Engorde del mejillón. Tarea 1. Adquisición o recolección de semilla de mejillón. Tarea 2. Instalación de la semilla en cuerdas y/o redes de cultivo. Tarea 3. Seguimiento del cultivo: efectos de especies predatoras sobre el cultivo, comercialización del producto, índices de condición, intercomparación aguas abiertas/aguas protegidas.

C. A. Canarias: Línea 1: Caracterización del ciclo reproductivo de la población de *Perna perna* (Linné, 1758) en las Islas Canarias. Tarea 1.1: Evaluación y selección de emplazamientos para la captura de ejemplares. Tarea 1.2: Captura y traslado de ejemplares. Tarea 1.3: Análisis histológico gonadal a lo largo de dos ciclos anuales. Línea 2: Evaluación de parámetros óptimos para el acondicionamiento del stock de reproductores Tarea 2.1: Habilitación del criadero piloto. Tarea 2.2: Evaluación de los parámetros óptimos para el acondicionamiento de reproductores. Línea 3: Optimización de las técnicas de producción de semilla. Tarea 3.1: Desarrollo embrionario y efecto de diversas microalgas sobre el crecimiento de larvas del mejillón *Perna perna* (L., 1758). Tarea 3.2: Cultivo de postlarvas. Línea 4: Difusión de la información

C. A. Cataluña: Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto. Tarea 1: Estudio del crecimiento, mortalidad e índices de condición. Tarea 2: Estudio de la reproducción y reclutamiento. Tarea 3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón. Tarea 4: Valoración del estado inmunológico del mejillón. Tarea 5: Transplantes de mejillón. Línea 2: Estudio de la composición tóxica del mejillón y parámetros ambientales. Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones.

C. A. Ceuta. Seguimiento del crecimiento del mejillón determinando peso total, peso de las valvas, peso fresco de carne, longitud máxima de la concha, índice gonadal. Variables ambientales y seguimiento higiénico-sanitario. Análisis histológico para determinar la presencia de patógenos, parásitos y bacterias. Censo de los bancos naturales de mejillón.

C.A. Galicia: Para las determinaciones de toxinas se han utilizado los bioensayos de ratón oficiales para PSP y DSP, HPLC con detección de fluorescencia y oxidación precolumna (método oficial AOAC 2005-06) y oxidación postcolumna (varios métodos) y kits de inmunocromatografía de flujo lateral de Jellett, para PSP; y HPLC con detección por espectrometría de masas de trampa iónica y de triple cuadrupolo (ambos Thermo) y kits de inhibición de fosfatasa (Toxiline-DSP Zeu- Inmunotec) para DSP. Para los estudios de cierres y su impacto en la venta del mejillón se han utilizado datos de cierres de la explotación, de INTECMAR y datos de producción y características de la misma procedentes del Consello Regulador del Mejillón de Galicia, de la Consellería do Mar y de la Organización de Productores de Mejillón de Galicia.

## 2.4. RESULTADOS

A continuación se presentan muy resumidos los principales resultados obtenidos en cada uno de los subproyectos, en los anexos de este informe se amplía la información aquí presentada.

C. A. Andalucía. Los rangos de temperatura registrados con mínimos de 13,5 °C y máximos de 25,8°C, ambos registrados en Caleta de Vélez revelan diferencias entre las diferentes zonas de cultivo, siendo Marbella y La Línea de la Concepción zonas más homogéneas durante el año. La concentración de clorofila es mayor en las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción, con concentraciones entre 4,42 y 5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . En relación al crecimiento del mejillón en Marbella el mayor crecimiento se observa en los meses de invierno asociados a bajas temperaturas y elevadas concentraciones de clorofila, sin embargo también se observan periodos de crecimiento coincidiendo con intensos afloramientos entre julio y septiembre, las tasas de crecimiento máximas son de 12,92 mm/mes. En Caleta de Vélez el patrón de crecimiento es muy heterogéneo con tasas máximas de 21,22 mm/mes. La duración del periodo de cultivo es de 14 meses en Marbella, 16-18 meses en Caleta de Vélez y 10-12 meses en La Línea de la Concepción. El rendimiento en carne muestra los valores más elevados en torno al 20% con promedios anuales en torno al 14% (La Línea de la Concepción) y 11% (Caleta de Vélez). La identificación de las zonas óptimas para el cultivo muestra las zonas más óptimas en la zona atlántica y algunas áreas concretas en el Mediterráneo entre Estepona y Caleta de Vélez. La fijación de la semilla muestra un patrón estacional con una mayor abundancia entre mediados de primavera y comienzo del verano, con un patrón espacial en relación a la profundidad.

C. A. Baleares. Se han identificado las zonas aptas para la isla de Menorca en el sur de la isla, en Mallorca la bahía de Palma, de la bahía de Palma se ha seleccionado cala Viñas como la zona más adecuada. La autorización de ocupación del dominio público marítimo terrestre se obtuvo el 13 de septiembre del 2010 aunque pendiente de una prospección arqueológica. En los colectores instalados no se obtuvo semilla, por ello en 2008 se utilizó semilla recogida en boyas de fondeo y se dispusieron para engorde, en 2009 se utilizó semilla cedida por el grupo de investigación de Andalucía. En 2010 se ha comprado 500 kg de mejillón encordado a los productores de Menorca y se mantienen en el interior de una jaula de peces perteneciente a LIMIA (Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuicultura) hasta poder instalarlo en la zona de cala Viñas. La comparación de los resultados (2008) de engorde en las bateas del puerto de Mahón y en las jaulas de Andratx muestra un crecimiento similar en talla y peso. La comparación de los resultados (2009) de engorde en las jaulas de LIMIA en el puerto de Andratx y en los tubos de engorde (cala Viñas) mostró una mayor afectación a la mortalidad estival en la zona de Andratx, posiblemente por elevadas temperaturas; además el crecimiento es parecido en longitud máxima pero en peso es mayor en el puerto de Andratx. En octubre 2010 se inició la comparación del crecimiento en Mahón y en Andratx, los resultados iniciales indican un crecimiento mejor en Mahón. Los dispositivos antipredación empleados han evitado la predación y han permitido recuperar los mejillones desprendidos.

C. A. Canarias. Durante todo el periodo de estudio se encontraron gónadas en estado madurando y en estado maduro. En el mes de noviembre se encontró la máxima cantidad de individuos en estado maduro, el estado de maduración parcialmente desovado fue máximo en los meses de diciembre, enero y febrero.

C. A. Cataluña. En relación a las condiciones ambientales se observa que la concentración de clorofila en promedio fue de 1,66 y 1,23 µg/L en los años 2008 y 2009 respectivamente. El crecimiento fue continuado durante todo el ciclo de cultivo aunque mayor en el periodo de octubre a marzo tanto en el ciclo 2007-2008 como el 2008-2009. De marzo a agosto el crecimiento es más lento. Aunque tras 8 meses de cultivo el crecimiento es mayor en superficie, sin embargo al final del ciclo de cultivo la talla media de los mejillones cultivados a diferentes profundidades coincidió. La mortalidad se mantuvo por debajo del 5% de octubre a mayo pero entre julio y agosto del 2008 la mortalidad alcanzó el 30% en superficie, aunque fue inferior a 6 m de profundidad (9,4%). La supervivencia del mejillón fue superior a la registrada en la bahía de Alfacs donde la mortalidad alcanzó el 100% en el mismo periodo. El rendimiento del mejillón cultivado en mar abierto fue un 15% superior al cultivado en la bahía de Alfacs en el 2008 y un 52% en el 2009. Se observaron 2 épocas de puesta, la primera en noviembre y la segunda, más intensa, en febrero. El mes de mayor captación de semilla fue el mes de enero.

C. A. Ceuta. En 10 meses de cultivo se alcanza la talla comercial (> 70 mm) partiendo de una talla media inicial de 45 mm. Las mayores tasas de crecimiento se obtienen en julio y septiembre con un valor máximo de 11,3 mm/mes. El rendimiento en carne sobrepasa el 40% tras 11 meses de cultivo, el máximo se obtiene tras 13 meses de cultivo (mes de septiembre) con 42,4% y desciende a partir de ese momento. Los resultados de los análisis de *E. coli* indican que el 58% de las muestras se encuentran dentro de clasificación como zona B y el 26% como zona A. En dos ocasiones los análisis de biotoxinas dieron resultados superiores al límite legal, en marzo del 2009 para las toxinas amnésicas y en septiembre 2009 para las toxinas paralizantes. El censo de las poblaciones de *M. galloprovincialis* muestra pequeños grupos aislados que no superan los 30 mm de talla.

C.A. Galicia: Las nuevas técnicas de análisis de PSP y DSP, no son estrictamente comparables con los bioensayos de ratón correspondientes, en algunos casos en cuanto a toxicidades a las que se efectúan los cierres del mercado (PSP) y en otros en cuanto a las concordancias de los resultados de distintas muestras reales (con un porcentaje considerable de falsos positivos y negativos). Los niveles reales a los que se efectuaría el cierre con cada una de las nuevas técnicas no debería tener un efecto significativo en la duración de los cierres, salvo en el caso de los kits Jellet, con los que en las situaciones estudiadas se habría producido un alargamiento considerable de los períodos de cierre. El coste por muestra de las técnicas es muy variable. Los bioensayos de ratón resultan las técnicas más baratas, y la técnica de HPLC-MS o MS/MS la más cara y los otros dos grupos HPLC-FD y kits, tienen un coste intermedio aunque las primeras son algo más caras. Las posibilidades operativas de las técnicas también difieren sustancialmente. Bioensayos y kits permiten procesar muestras prácticamente en paralelo, con lo cual se ajustan bien a cambios inesperados en la dinámica de trabajo. Las técnicas cromatográficas no permiten esto y las determinaciones se hacen en serie, lo que conlleva más tiempo requerido y menos flexibilidad. La complejidad de los equipos de HPLC de espectrometría de masas introducen un notable riesgo para la dinámica de los programas de control. Las rebajas de niveles máximos permisibles de biotoxinas en los bivalvos afectarían de forma importante al cultivo de mejillón ya que los períodos de cierre se alargarían en gran medida y la generalización geográfica de los cierres aumentaría. Las prolongaciones de los cierres y su impacto económico dependen fundamentalmente de las especies tóxicas responsables, del perfil tóxico de las mismas y de la época del año en que se produzcan. En Galicia probablemente el mayor impacto se produciría en los episodios de *Gymnodinium catenatum* y *Dinophysis acuta* de otoño. En caso de cambio de niveles a los sugeridos por EFSA únicamente las técnicas cromatográficas tendrían sensibilidad suficiente para poder ser utilizadas en el control. La combinación de diferentes técnicas para el control debe llevar a introducir un notable sobrecosto de los sistemas y su utilización debe evaluarse concienzudamente para asegurarse que las ventajas operativas compensan el precio adicional de los análisis.

## 2.5. CONCLUSIONES/APLICABILIDAD DE LOS RESULTADOS DEL PLAN

En líneas generales

C. A. Andalucía. Se ha puesto de manifiesto un patrón de crecimiento estacional, asociado a aguas frías y ricas en nutrientes, con ciclos de cultivo de 12 a 16 meses. Se han cartografiado las zonas óptimas para el cultivo. La región más occidental de la franja mediterránea andaluza parece más adecuada para el cultivo que la zona oriental. Se ha constatado la presencia de semilla a lo largo de todo el año con un periodo más significativo y suficiente para el aprovisionamiento, entre mediados de primavera y comienzo del verano. Los resultados indican que sería recomendable la colocación de las cuerdas colectoras a principio de primavera y preferiblemente en profundidad, para incrementar la eficiencia en la captación de la semilla. Los resultados del proyecto refuerzan la hipótesis inicial de la viabilidad del cultivo del mejillón en Andalucía. Algunos aspectos necesitan de estudios más detallados como el control de la depredación, de los epibiontes y el diseño de las estructuras de cultivo. Durante el desarrollo del proyecto los productores pusieron de manifiesto su interés en la diversificación de especies usando las estructuras ya existentes.

C. A. Baleares: la lentitud en la tramitación de la concesión/autorización del dominio público marítimo terrestre en las Islas Baleares representa una dificultad importante para el desarrollo de cualquier proyecto de acuicultura. Además existen pocas zonas aptas para la instalación de sistemas de engorde. El crecimiento del mejillón en longitud máxima en las zonas protegidas es similar al de las zonas abiertas, aunque el peso es menor en zonas abiertas. Las redes de protección son eficaces para retener desprendimientos y evitar el aporte de residuos. El precio de primera venta, cercano a los 3 €/kg.

C. A. Canarias. En el criadero piloto construido en el marco de este proyecto se ha conseguido la primera puesta en cautividad de *Perna perna* en Canarias. Esto permite la producción de semilla para el posterior engorde de esta especie ya que las poblaciones naturales se han reducido mucho en los últimos años, había sido un recurso marisquero. Además el conocimiento del ciclo reproductor permite

C. A. Cataluña. Los resultados obtenidos durante el curso de este proyecto en la batea flotante situada en aguas abiertas muestran que durante los episodios de elevadas temperaturas del verano los porcentajes de mortalidad del mejillón en aguas abiertas son muy inferiores a los registrados en la bahía de Alfacs durante el mismo episodio en el año 2008. Los resultados también indican que el rendimiento de los mejillones cultivados en mar abierto fue un 15% y un 52% superior a los cultivados en la bahía de Alfacs respectivamente para los años 2008 y 2009. Estos resultados son de gran



relevancia para el sector puesto que uno de los problemas al que se enfrenta es el de las elevadas mortalidades veraniegas asociadas a las elevadas temperaturas que se alcanzan en las bahías del delta del Ebro. A la vista de estos resultados algunos productores han iniciado nuevos cultivos cercanos a la zona en la que se ha realizado el estudio utilizando sistema de long-line, la nueva producción prevista para este año en esta zona de aguas abiertas con esta instalación en long-line es de 90.000 kg además se han trasladado 30.000 kg de semilla a otra instalación también colocada en la misma zona y hay la previsión de trasladar 100.000 kg el próximo año.

C. A. Ceuta. Tanto los datos de engorde y crecimiento como las condiciones higiénico-sanitarias de la zona pueden ser considerados como elementos positivos en la viabilidad de esta actividad. Por el contrario, un factor limitante podría ser el abastecimiento de semilla, que o bien debería ser exportada de otras regiones o captada en las propias instalaciones.

C.A. Galicia. Los resultados obtenidos son absolutamente necesarios a la hora de ponderar la introducción de nuevas técnicas y de nuevos niveles máximos tolerables con las consecuencias que pueden tener para el sector productor, para la efectividad y coste de los programas de control y para la salud pública, claramente imprescindibles para la sostenibilidad del sector mejillonero. En una dinámica de expansión del cultivo de mitílidos, como el que se aborda en este proyecto, toda esta información servirá como orientación de los problemas con las que otras comunidades autónomas se tendrán que enfrentar a medida que el volumen de la producción aumente y que por lo tanto, las necesidades de control también. Algunos de los datos obtenidos ya están siendo utilizados en las discusiones sobre niveles y técnicas con la Unión Europea.

## 2.6. VALORACIÓN

Valoración global.

El proyecto se ha ejecutado según lo previsto en Galicia, Andalucía y Canarias. Baleares ha adquirido la instalación de cultivo pero la obtención de la autorización para la ocupación del dominio Público Marítimo Terrestre se ha retrasado por lo que no ha sido posible realizar el engorde en el emplazamiento previsto para esta instalación, se ha realizado el seguimiento del engorde en las bateas del puerto de Mahón y en las instalaciones de LIMIA en el puerto de Andratx. En Cataluña la tarea de los trasplantes de mejillón no pudo completarse y la tarea de la composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón a pesar de haber sido realizada ha dado lugar a unos resultados no válidos, todas las demás tareas se han ejecutado. En Ceuta además de haberse realizado el programa propuesto se ha desarrollado una tarea no contemplada inicialmente.

Valoración realizada por las comunidades.

C. A. Andalucía. El contacto directo con el sector trabajando conjuntamente con empresas de cultivo de mejillón ha favorecido el desarrollo del proyecto. La obtención de series temporales prolongadas y de alta resolución, cubriendo ciclos de cultivo completos ha permitido disminuir la variabilidad e incertidumbre en la interpretación de los datos. La recopilación e integración de la información procedente de distintos estudios previos tanto propios como externos ha aportado más fiabilidad a los resultados.

C. A. Cataluña. El proyecto ha permitido demostrar la viabilidad del cultivo del mejillón en aguas abiertas en Cataluña, algo que era cuestionado por muchos productores. Esta posibilidad representa una alternativa teniendo en cuenta que las elevadas temperaturas que se registran en el verano en las bahías del delta del Ebro, en las que se concentra la producción de mejillón de Cataluña, son una limitación para este cultivo.

C.A. Galicia. Los resultados obtenidos resultan de un notable interés para centrar la problemática del control de biotoxinas, especialmente en un marco de crecimiento del cultivo de mitílidos.

## 2.7. DIFUSIÓN

C. A. Andalucía: Los resultados se presentaron en el XII Congreso Nacional de Acuicultura en forma de 2 presentaciones orales y 1 presentación tipo poster.

C. A. Baleares: no se ha realizado difusión.

C. A. Canarias: Los resultados se han presentado en forma de 4 posters en el XII Congreso Nacional de Acuicultura; en dos foros específicos del tema organizados con la colaboración de diferentes entidades de las Islas Canarias incluidas las cofradías de pescadores; y en el Foro dos recursos mariños e da acuicultura das Rías Galegas. Una parte de los resultados del proyecto fueron presentados en el Diploma de Estudios Avanzados de L. Aarab.

C. A. Cataluña: Los resultados se presentaron en forma de 2 presentaciones orales y 1 póster en el XII Congreso Nacional de Acuicultura. En las XV Jornades Tècniques Expo-Ràpita – II Congrés d’Aqüicultura Mediterrània – II Simposi d’Aqüicultura de Catalunya se presentó 1 poster. También se organizó una Jornada Técnica dirigida a los productores y una reunión con los productores en la que se les repartió un dossier con los primeros resultados obtenidos. Aparecieron en la prensa varias noticias relacionadas con el proyecto.

C. A. Ceuta: participación en el XII Congreso Nacional de Acuicultura, intervenciones en los medios de comunicación

C. A. Galicia. Se han presentado varios posters en congresos internacionales y se publicará la información obtenida en revistas de acceso abierto y/o se incluirá en un sitio web específico.

## 2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

C. A. Andalucía. Se realizaron las actividades previstas según la planificación y los objetivos programados con pequeñas modificaciones en relación a aspectos técnicos de los muestreos y protocolos de análisis en relación con los índices de condición y fijación de la semilla.

C. A. Baleares. Aunque se inició la redacción del proyecto para la instalación de tubos de engorde en Binidali (Menorca), posteriormente se decidió el cambio de ubicación por problemas logísticos. El trámite administrativo para el emplazamiento finalmente decidido de cala Viñas ha sido largo y no ha permitido la instalación de los tubos de engorde, se pretende continuar con el proyecto durante 2011 y 2012 con cargo a presupuestos propios por el interés que tenía el sector mejillonero en este sistema de engorde.

C. A. Canarias. Las actividades previstas para el año 2007 se pospusieron para el año 2008 debido a los retrasos en la recepción de la financiación. Posteriormente las actividades se realizaron según la planificación e incluso se realizaron actividades extra (localización de emplazamientos, reuniones y acuerdos de colaboración) no contempladas inicialmente.

C. A. Cataluña. La valoración del estado inmunológico del mejillón prevista para el 2008 se realizó en el 2009. Los trasplantes de mejillón desde la bahía de Alfacs hasta la batea en aguas abiertas se realizó en 2009 pero las cuerdas de este experimento fueron cortadas y robadas, perdiéndose así la muestra e imposibilitando la realización del experimento.

C. A. Ceuta La fecha de inicio del subproyecto se retrasó por la necesidad de cumplimiento de los plazos de contratación de personal en los organismos públicos. Este retraso inicial obligó a solicitar una prórroga sin financiación de seis meses, por lo que el subproyecto se extendió durante el primer semestre de 2010.

C.A. Galicia: Resultó necesaria una prórroga por los retrasos acumulados en algunas de las tareas. Esta prórroga se aprovechó además para tratar de realizar algunos estudios finales relativos métodos aparecidos durante el desarrollo del proyecto y nuevos equipamientos obtenidos por nuestros laboratorios. No hubo incidencias adicionales que señalar.

### **3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO**

Se adjuntan las justificaciones firmadas y escaneadas de cada una de las comunidades participantes en este proyecto.

### 3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO

(Deberá ser cumplimentada una hoja para cada una de las Comunidades Autónomas participantes en el Plan).

COMUNIDAD AUTÓNOMA: ANDALUCÍA

Presupuesto transferido: 209.982,01 (€)

¿Se ha ajustado el gasto a las partidas presupuestarias previstas inicialmente en el plan? ..... **Si** No

En caso de NO, indicar a qué partidas se han asignado

Firma de la Autoridad Competente:



Fdo: Daniel Acosta Camacho  
(Jefe de Servicio de Ordenación de Recursos Pesqueros y Acuícolas)



### 3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO

COMUNIDAD AUTÓNOMA: CANARIAS

Presupuesto transferido: 93.136 EUROS

¿Se ha ajustado el gasto a las partidas presupuestarias previstas inicialmente en el plan? ..... **Si** No

En caso de NO, indicar a que trabajos se han asignado

No obstante, se han realizado modificaciones en las cuantías de algunas partidas para adaptarlas a la realidad del proyecto. Así, Material Fungible se incrementó en 10.632,19€ para sufragar gastos no previstos en el presupuesto inicial y la partida de Servicios Externos en 19.542,00€ ya que cambió el sistema de contratación de personal. Para cubrir estos incrementos se redujeron las partidas de Material Inventariable, Nóminas, Otros Gastos y Gastos de Viaje en 30.174,19€.

  
Manuel Fajardo Feo  
VICECONSEJERO DE PESCA  
Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de enero de 2011

### 3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO

(Deberá se cumplimentada una hoja para cada una de las Comunidades Autónomas participantes en el Plan).

COMUNIDAD AUTÓNOMA: CATALUÑA

Presupuesto transferido:

214.802,00 Euros

¿Se ha ajustado el gasto a las partidas presupuestarias previstas inicialmente en el plan? ..... Si No

En caso de NO, indicar a qué partidas se han asignado



Agustí Fonts Cavestany  
Subdirector General IRTA

**IRTA**  
RECERCA | TECNOLOGIA  
AGROALIMENTARIES

### 3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO

Ciudad Autónoma de Ceuta

Presupuesto transferido: 91,121.00 €

¿Se ha ajustado el gasto a las partidas presupuestarias previstas inicialmente en el plan? ..... Si

Firma de la Autoridad Competente:  
D<sup>a</sup> Yolanda Bel Blanca  
Presidenta del Consejo de Administración de OBIMASA  
Consejera de Medio Ambiente y Servicios Urbanos



### 3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO

(Deberá se cumplimentada una hoja para cada una de las Comunidades Autónomas participantes en el Plan).

COMUNIDAD AUTÓNOMA GALICIA  
Presupuesto transferido: 191.102,00€

¿Se ha ajustado el gasto a las partidas presupuestarias previstas inicialmente en el plan? ..... Si No

En caso de NO, indicar a qué partidas se han asignado

Firma de la Autoridad Competente



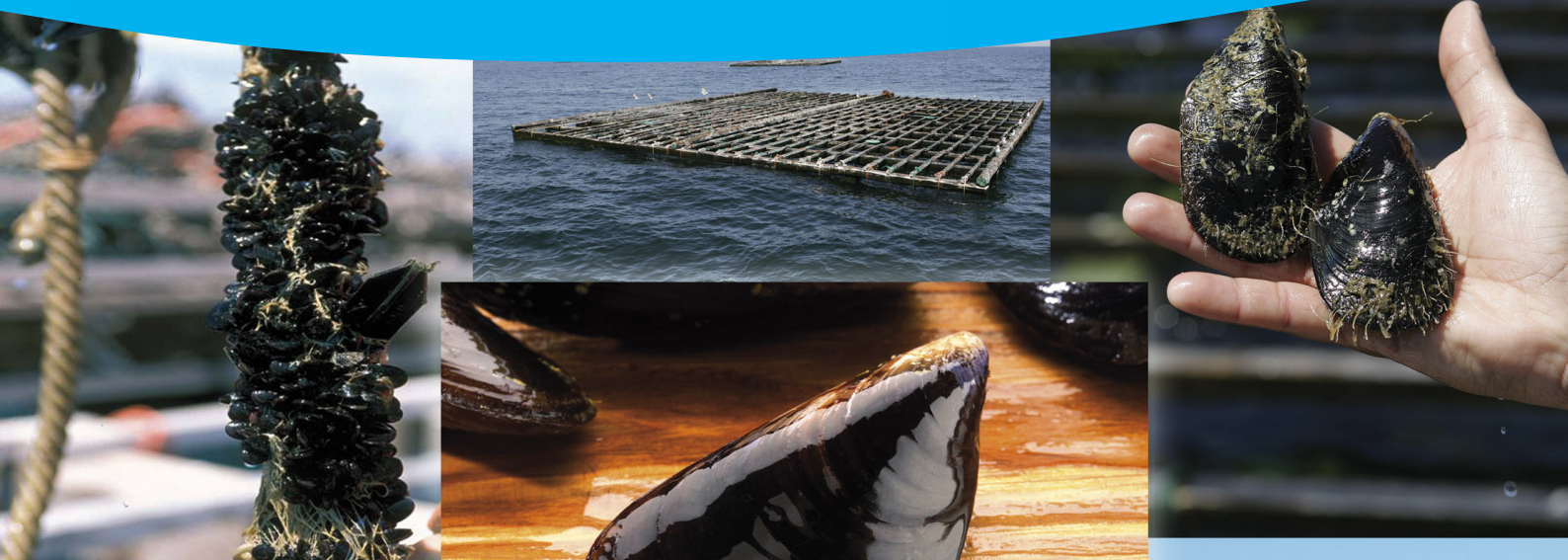
**Susana Rodríguez Carballo**  
Directora Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro

### **3.- ANEXOS CON LOS INFORMES DE LAS DISTINTAS CCAA**

INFORME\_FINAL\_CULMITES\_ANDALUCÍA.pdf  
INFORME\_FINAL\_CULMITES\_BALEARES.pdf  
INFORME\_FINAL\_CULMITES\_CANARIAS.pdf  
INFORME\_FINAL\_CULMITES\_CANARIAS\_PRESENTACIÓN.pdf  
INFORME\_FINAL\_CULMITES\_CATALUÑA.pdf  
INFORME\_FINAL\_CULMITES\_CEUTA.pdf  
INFORME\_FINAL\_CULMITES\_GALICIA.pdf

# PLAN NACIONAL DE CULTIVOS MARINOS JACUMAR

## CULTIVO DE MYTILIDOS, EXPANSIÓN Y SOSTENIBILIDAD



Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero  
**CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y PESCA**



JUNTA DE ANDALUCÍA  
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y PESCA



**JACUMAR**  
JUNTA NACIONAL  
ASESORA DE CULTIVOS MARINOS



## Cultivo de mitílidos: Expansión y sostenibilidad

### **ENCARGO:**

**CONSEJERIA DE AGRICULTURA Y PESCA**

**DIRECCIÓN GENERAL DE PESCA Y ACUICULTURA.**

**Servicio de Estructuras Pesqueras y Acuícolas.**

**Dirección Facultativa:** D.<sup>a</sup> Rosa María Villarías Molina.

D. Daniel Acosta Camacho

### **EJECUCIÓN:**

**EMPRESA PÚBLICA DESARROLLO AGRARIO Y PESQUERO.**

**Subdirección de Gestión de Recursos Marinos:** D. José Javier Marco Mirallas.

**Jefe de Área Coordinador del Proyecto:** D. José Carlos Macías Rivero.

**Equipo técnico:** D. Pablo Ignacio León Díaz

D.<sup>a</sup> María del Mar Agraso Martínez

D. Pablo Ávila Zaragoza

**Otros técnicos de la Empresa que han colaborado al desarrollo del proyecto en sus diversas áreas y etapas:** D. Alejandro Guerrero, D. Alejandro Ibáñez, D. Jaime de Andrés, D. Enaitz Aguirre, D. Oscar Mansilla, D. Antonio Álvarez, Dña. M<sup>a</sup> Dolores Gómez, M<sup>a</sup> del Mar Lara.

### **EMPRESAS COLABORADORAS:**

- **CULTIVOS MARINOS DE ANDALUCÍA S.L.**
- **PESCADOS Y MARISCOS MAR DE LA LÍNEA S.L.**



**JACUMAR**  
**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

# **Cultivo de mytilidos, expansión y sostenibilidad.**



**ANEXO INFORME FINAL SUBPROYECTO COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA**



Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero  
**CONSEJERÍA DE AGRICULTURA Y PESCA**



**JACUMAR**  
JUNTA NACIONAL  
ASESORA DE CULTIVOS MARINOS





## INDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>2. ANTECEDENTES Y CONTEXTO ACTUAL.....</b>	<b>5</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>7</b>
<b>4. ÁMBITO DE ESTUDIO.....</b>	<b>9</b>
<b>4.1. Experiencia I: Cultivos Marinos de Andalucía, S.A. Caleta (Málaga).....</b>	<b>10</b>
4.1.1.Localización geográfica.....	10
4.1.2.Instalaciones y actividad desarrollada.....	10
4.1.3.Caracterización ambiental.....	11
<b>4.2. Experiencia II: Cultivos Marinos de Andalucía, Marbella (Málaga).....</b>	<b>13</b>
4.2.1.Localización geográfica.....	13
4.2.2.Instalaciones y actividad desarrollada.....	13
4.2.3.Caracterización ambiental.....	14
<b>4.3. Experiencia III: Pescados y Mariscos Mar de La Línea, La Línea C.(Cádiz).....</b>	<b>16</b>
4.3.1.Localización geográfica.....	16
4.3.2.Instalaciones y actividad desarrollada.....	16
4.3.3.Caracterización ambiental.....	17
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
<b>5.1. MONITORIZACIÓN AMBIENTAL.....</b>	<b>21</b>
5.1.1.Experiencia I: Cultivos Marinos de Andalucía, Caleta de Vélez (Málaga).....	22
5.1.2.Experiencia II: Cultivos Marinos de Andalucía, Marbella (Málaga).....	23
5.1.3.Experiencia III: Pescados y Mariscos Mar de La Línea, La Línea (Cádiz).....	23
<b>5.2. LÍNEA 1: Estudio de crecimiento e índices de condición de poblaciones cultivadas mediante diferentes sistemas y zonas geográficas.....</b>	<b>24</b>
5.2.1. Diseño de la experiencia y campañas de muestreo.....	24
5.2.2. Tratamiento de muestras en laboratorio.....	28
5.2.3. Análisis e interpretación de datos.....	30
<b>5.3. LÍNEA 2: Identificación y cartografiado de zonas idóneas para cultivo.....</b>	<b>32</b>
5.3.1. Recopilación e interpretación de la información.....	32
5.3.2. Elaboración de cartografía.....	33
<b>5.4. LÍNEA 3: Determinación de formas de obtención de semilla.....</b>	<b>39</b>
5.4.1. Diseño de la experiencia y campañas de muestreo.....	39
5.4.2. Tratamiento de muestras en laboratorio.....	41
5.4.3. Análisis e interpretación de datos.....	42
<b>5.5. LÍNEA 4: Biotoxinas nocivas en zonas de producción de cultivo de mejillón. 43</b>	<b>43</b>
5.5.1. Datos históricos de aparición de episodios tóxicos.....	43
5.5.2. Análisis e interpretación de la información.....	43
<b>5.6. LÍNEA 5: Evaluación de la compatibilidad de cultivo de mejillón con otras actividades de cultivo en mar abierto.....</b>	<b>44</b>

---

<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>47</b>
6.1. Monitorización ambiental.....	47
6.2. Estudio del crecimiento e índices de condición de las poblaciones cultivadas mediante los diferentes sistemas y zonas geográficas.....	78
6.3. Identificación y cartografiado de las zonas óptimas para el cultivo.....	101
6.4. Determinación de patrones de fijación de semilla y evaluación de los métodos de obtención.....	107
6.5. Biotoxinas detectadas en zonas de producción de cultivo de mejillón.....	127
6.6. Evaluación de la compatibilidad de cultivo de mejillón con otras actividades de cultivo en mar abierto.....	144
<b>7. CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS.....</b>	<b>147</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>151</b>

## **INTRODUCCIÓN**

---

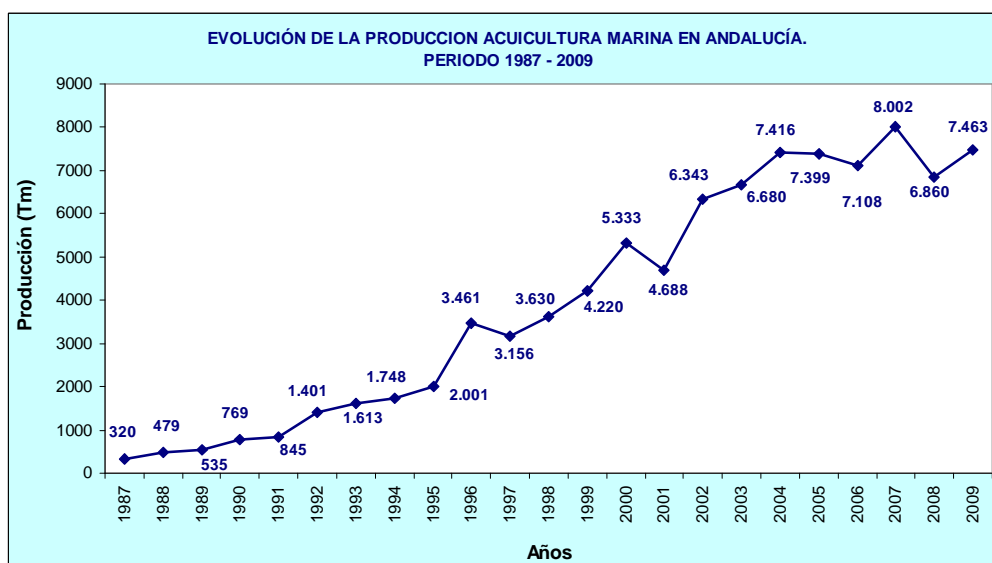


## 1. INTRODUCCIÓN

La situación actual de la actividad pesquera a nivel mundial, con crecientes niveles de explotación y agotamiento de caladeros (FAO 2007), provoca la búsqueda de nuevas estrategias que permitan la supervivencia y desarrollo del sector pesquero, especialmente en zonas afectadas por la reconversión pesquera, manteniendo a su vez el aprovisionamiento de productos del mar a la población a precios competitivos.

La acuicultura constituye una alternativa real a los procesos extractivos. El porcentaje creciente sobre las descargas mundiales de pescado otorga a este sector un papel cada vez más relevante desde la perspectiva económica. Esta circunstancia hace que la actividad acuícola como un claro sector de futuro para el desarrollo económico sostenible de determinadas áreas costeras, donde puede suponer una importante fuente de empleos y rentas (Boletín económico de ICE, 2006).

En los últimos años la acuicultura marina en Andalucía (figura 1.1) viene experimentando un importante desarrollo como actividad productiva de creciente importancia en nuestra región (Macías et al., 2005). Este sector se ha desarrollado principalmente en sistemas de cultivos confinados en la costa o en estructuras flotantes, y sobre la base de la producción de Dorada (*Sparus aurata*) y Lubina (*Dicentrarchus labrax*). Sin embargo, en la última década se ha producido un creciente interés por el cultivo de mejillón en el litoral andaluz, como consecuencia de las condiciones favorables existentes en él.



**Figura 1.1** Evolución de la producción de la acuicultura marina en Andalucía para el periodo 1987-2009. **Fuente:** E.P. DAP.

La presencia de afloramientos costeros de aguas frías y ricas en nutrientes provoca la fertilización de grandes áreas del litoral andaluz (García et al., 2002; Reul et al., 2005; 2006), determinando unas condiciones favorables para el cultivo de bivalvos marinos. Esta circunstancia, junto con la extensión de costa disponible (con más de 800 km) y la baja ocupación de la misma por instalaciones de acuicultura, otorga a la costa andaluza un gran potencial para la explotación de este recurso (Tirado & Macías, 2006).

Como consecuencia, en los últimos años se han establecido diversas instalaciones de miticultura en el litoral andaluz, y se ha producido una gran demanda de solicitudes de nuevas autorizaciones. Dicho interés se ha traducido en la convocatoria pública para la concesión (Resolución de 31 de julio de 2006, BOJA 156) de nuevas instalaciones en las provincias de Huelva, Cádiz, Málaga y Granada.

El cultivo de mejillón en Andalucía parte ya del conocimiento adquirido en el desarrollo de los trabajos de Tirado & Macías (2006). Sin embargo, el crecimiento y posibilidades de desarrollo de esta industria en Andalucía hacen patente la necesidad de un estudio integral sobre el cultivo de mejillón en el litoral andaluz, que permita profundizar en su conocimiento y establezca los principales aspectos a tener en cuenta para una correcta ordenación y planificación de dicho sector.

En este contexto surge el proyecto “Cultivo de mitílicos: expansión y sostenibilidad”, enmarcado dentro del Plan Nacional de cultivos marinos aprobado por JACUMAR para el período 2007-2009. Está coordinado desde la Comunidad Autónoma de Cataluña, y consta de 5 subproyectos correspondientes a cada una de las CCAA participantes, Cataluña, Galicia, Baleares, Canarias y Andalucía. En Andalucía se han llevado a cabo las actuaciones relativas al subproyecto 3, cuyo objetivo general es la mejora del conocimiento de los diversos aspectos relacionados con el cultivo del mejillón en Andalucía.

Siguiendo la filosofía de los Planes Nacionales JACUMAR, basada en el apoyo directo a las empresas de acuicultura a través de la investigación aplicada y el aporte de conocimiento adicional que permita el desarrollo de las mismas, el objetivo del proyecto se plantea desde una perspectiva útil, que permita la interacción con el sector, combinando la experiencia adquirida por las empresas productoras, con el conocimiento científico aportado por los técnicos al servicio de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Por ello se ha contado con la colaboración de las tres instalaciones de cultivo de mejillón existentes durante el desarrollo del proyecto, pertenecientes a las empresas Cultivos Marinos de Andalucía, S.L., y Pescados y Mariscos Mar de La Línea, S.L.

## **ANTECEDENTES Y CONTEXTO ACTUAL**

---





## 2. ANTECEDENTES Y CONTEXTO ACTUAL

La producción mundial de mejillones procedentes de cultivo ha aumentado progresivamente en los últimos 20 años, mientras que la de pesca se mantiene estable, representando actualmente un 10% del total.

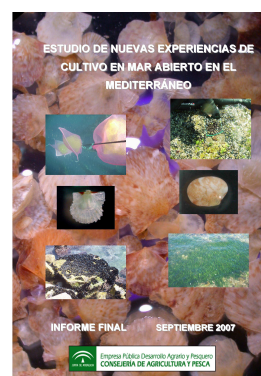
El cultivo de mejillón en Europa representa el 37% de la producción mundial pero ha disminuido un 4% en el 2003 respecto del 2000, el mismo porcentaje en que se ha incrementado la producción de China. Analizando la producción europea del mejillón, España es el mayor productor del continente (250.000 t), seguido de Italia (100.000 t) y Holanda (50.000 t) (FAO, 2003).

En nuestro país, el cultivo del mejillón representa una importante actividad económica en Galicia, primer productor de mejillón en Europa, y se desarrolla a menor escala en Cataluña, Valencia y Baleares, donde tiene gran importancia local (Ramón et al., 2006). Recientemente ha surgido un elevado interés en desarrollar el cultivo de mejillón en zonas mediterráneas en las que esta actividad no tiene tradición. Así, en la Comunidad Andaluza, si bien existen antecedentes de cultivo desde mediados de los 90', se ha producido una creciente demanda de solicitudes de autorización para la explotación de este recurso.

En estas zonas, donde la acuicultura de moluscos y los subsectores que comprende están poco o todavía no desarrollados, es necesaria una ordenación previa de la actividad, acorde con la disponibilidad de recursos y la protección del medio ambiente.

En este contexto, la Junta de Andalucía a través de la Consejería de Pesca y Agricultura y su E. P. Desarrollo Agrario y Pesquero viene desarrollando en los últimos años diferentes estrategias para evaluar la potencialidad del cultivo de mejillón en Andalucía. Así, desde el año 2002, se han realizado diversos trabajos dirigidos principalmente a mejorar el conocimiento del cultivo y todas las actividades relacionadas con su desarrollo.

Durante 2003 y 2004 se desarrolló un primer proyecto denominado "Evaluación integral de la potencialidad del cultivo del mejillón en el litoral andaluz", que incluyó aspectos relativos a las poblaciones de mejillón salvajes y cultivadas (Tirado & Macias, 2006). Este estudio puso de manifiesto la identidad genética de la especie de mejillón (*Mitylus galloprovinci alis*, Lamarck, 1819) presente en Andalucía, aspecto este de gran importancia para una potencial autorización para la importación de semilla. Asimismo se identificaron los periodos de actividad gonadal de las poblaciones estudiadas, necesarios para determinar los momentos de emisión de gametos y posible fijación de semilla. El trabajo incluyó además un cartografiado de la presencia de semilla en el litoral, y aportó los primeros registros de índices de condición y crecimiento de las poblaciones cultivadas en nuestras costas, así como de las condiciones ambientales de cultivo (temperatura, clorofila, sólidos en suspensión y materia orgánica). Finalmente, se realizó un seguimiento de los aspectos sanitarios del cultivo (entendiéndose por tal las patologías detectadas en los mismos), así como un análisis de la frecuencia y aparición de fenómenos biotóxicos (Tirado et al., 2005).



Posteriormente, el proyecto JACUMAR “Estudio de nuevas experiencias de cultivo en mar abierto en el Mediterráneo” (2005-2007), dado el carácter limitante que supone para el desarrollo de los cultivos (Fuentes y Molares, 1994), incidió en el estudio de las poblaciones de semilla de mejillón en el medio natural, incluyendo una primera estimación de la cantidad y calidad de la semilla existente en el litoral mediterráneo occidental de Andalucía.

Si bien estos estudios han puesto de manifiesto aspectos muy destacados relativos al mejillón y su cultivo en nuestras costas, sus conclusiones se refieren a estadios iniciales de los cultivos, por lo que quedaban diversos temas sobre los que no se había trabajado y otros sobre los que habría que profundizar, máxime cuando el cultivo de mejillón en Andalucía se encuentra actualmente en fase de expansión. Esta circunstancia motivó la elaboración por parte de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, de una orden que regula las autorizaciones de cultivo en Andalucía (Resolución de 10 de abril de 2006, BOJA 76).

En este contexto se ha desarrollado durante el bienio 2007-2009 el proyecto “Cultivo de mytilidos: expansión y sostenibilidad”, recogido en esta memoria. Financiado por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino en el marco del Plan Nacional de cultivos marinos JACUMAR, este estudio pretende profundizar en el conocimiento del cultivo de mejillón en Andalucía, apoyado por la observación y toma de datos directa en los emplazamientos donde actualmente se desarrolla. Para ello se ha realizado una recopilación de datos científico-técnicos que permiten el análisis de series temporales más largas, incluyendo aspectos y líneas de trabajo no analizadas anteriormente, como los patrones de fijación de semilla en las instalaciones de cultivo.

En comparación con estudios anteriores se ha aumentado la resolución temporal de los muestreos y se ha prestado especial atención a las condiciones ambientales, para lo cual se ha contado con diversos equipos de monitorización ambiental.

## **OBJETIVOS**

---



### 3. OBJETIVOS

El proyecto JACUMAR “Cultivo de mitílidos: Expansión y sostenibilidad” se articula en varios subproyectos, y uno de ellos, el subproyecto 3, titulado “Desarrollo y optimización del cultivo de mitílidos”, correspondiente a la Comunidad Autónoma de Andalucía tiene como objetivo general disponer de mayor información en cuanto a las características técnicas del cultivo de mejillón en la costa andaluza, con el fin de poder desarrollar en las mejores condiciones posibles este cultivo e intentar prevenir posibles problemas que se puedan plantear en futuro.

Este propósito general se articula en diversos objetivos específicos:

- 1.- Mejorar el conocimiento sobre el cultivo de mejillón en Andalucía, especialmente respecto a crecimientos, condiciones de cultivo, rendimiento de poblaciones, calidad de aguas, etc.
- 2.- Disponer de información sobre los sistemas de cultivo empleados y el comportamiento de éstos en diferentes localizaciones geográficas.
- 3.- Identificación cartográfica de las mejores zonas de cultivo para el mejillón, desde el punto de vista oceanográfico.
- 4.- Conocer la situación de la presencia de semilla de mejillón a lo largo del litoral y sus posibilidades de explotación para el abastecimiento de las instalaciones de cultivo, así como otros métodos de obtención de semilla.
- 5.- Analizar el grado de aparición, frecuencia e intensidad de los episodios de contaminación por biotoxinas en las poblaciones cultivadas y aplicación de posibles métodos de detoxificación.
- 6.- Disponer de mayor información sobre la compatibilidad del cultivo de mejillón con otros sistemas de cultivo en mar abierto.

Para su desarrollo, estos objetivos se han agrupado en varias líneas de actuación y trabajo:

- **Línea 1.** Estudio de los índices de crecimiento y rendimientos de las poblaciones cultivadas mediante los diferentes sistemas y zonas geográficas.
- **Línea 2.** Identificación y cartografiado de las zonas óptimas para el cultivo.
- **Línea 3.** Determinación de patrones de fijación de semilla y evaluación de métodos de obtención.
- **Línea 4.** Biotoxinas y episodios tóxicos en el cultivo de mejillón.
- **Línea 5.** Evaluación de la compatibilidad de cultivo de mejillón con otras actividades de cultivo en mar abierto.



## **ÁMBITO DE ESTUDIO**

---

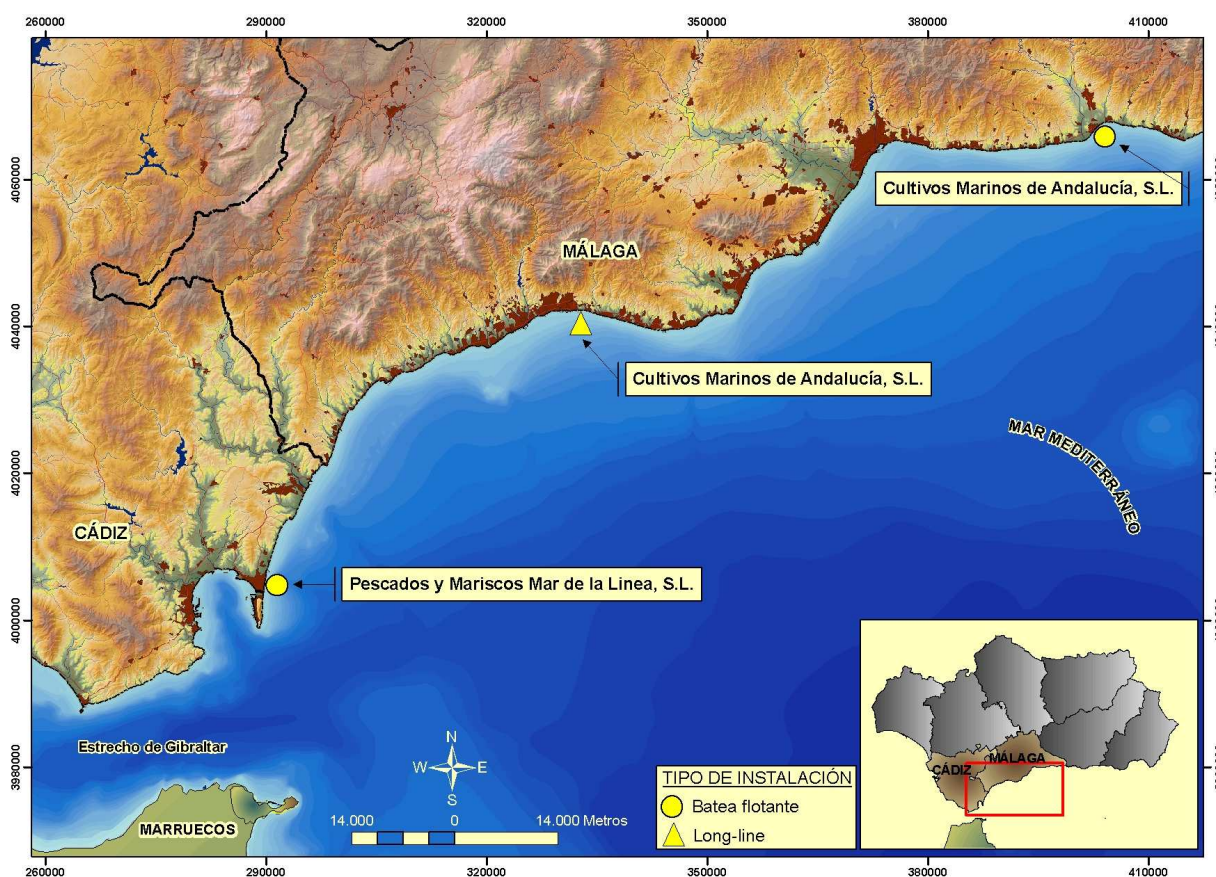




#### 4. ÁMBITO DE ESTUDIO

El desarrollo de las diversas actuaciones incluidas en el proyecto se basa en la realización de muestreos mensuales en tres de las instalaciones de cultivo existentes en Andalucía.

Éstas se sitúan en las localidades de La Línea de la Concepción (Cádiz), Marbella y Caleta de Vélez (Málaga) (Figura 4.1). A pesar de su cercanía (150 km), estas localizaciones son representativas de condiciones hidrodinámicas y ambientales diversas, e incluyen métodos de cultivo diferentes. Mientras en La Línea de la Concepción y Caleta de Vélez se utilizan bateas de madera, en Marbella la instalación es de tipo long-line.



**Figura 4.1** Situación de las instalaciones de cultivo objeto de estudio. Los círculos indican sistema de bateas, mientras que el triángulo se corresponde con un sistema long-line. Fuente: E.P. DAP

## 4.1 Experiencia I: cultivos marinos de Andalucía, Caleta de Vélez (Málaga)

### 4.1.1. Localización geográfica.

Ocupando la posición más oriental de las zonas estudiadas, la instalación de Caleta de Vélez se sitúa a unos cientos de metros al Sureste del Puerto del mismo nombre (Figura 4.2), en la provincia de Málaga. La población presenta una importante actividad pesquera, así como un uso turístico en época estival.

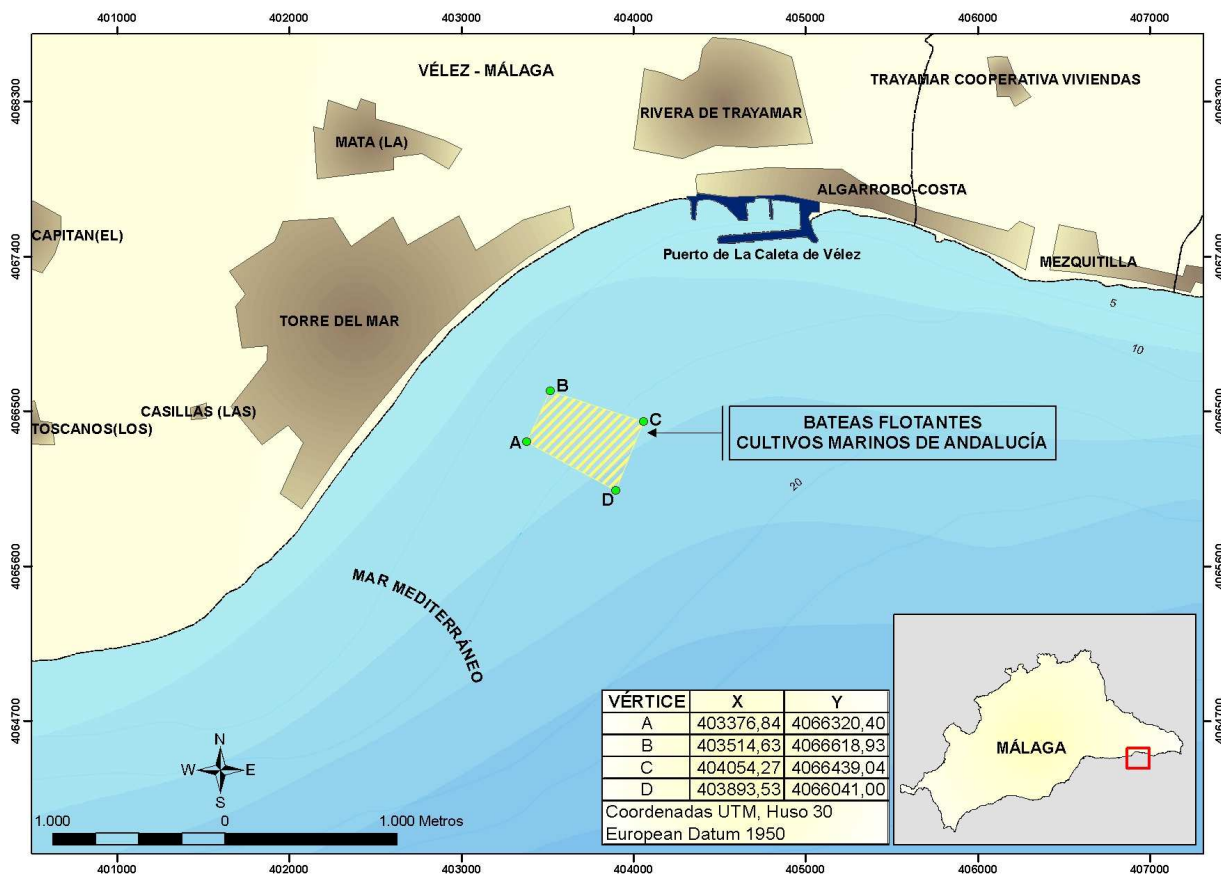


Figura 4.2 Situación bateas en la instalación de Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

### 4.1.2. Instalaciones y actividad desarrollada.

Pertenciente a la empresa Cultivos Marinos de Andalucía, S.L., la instalación de cultivo situada en Caleta de Vélez comenzó su actividad en el año 2006, y por ello, de las tres instalaciones estudiadas, esta ha sido la última en comenzar a producir mejillón. Consta actualmente(2008-2009) de 5 bateas de madera (Fotografía 4.1), si bien en el proyecto original se planteaba la instalación de un total de 15, utilizadas exclusivamente para el engorde del mejillón así como para la captación de semilla.

La explotación del polígono se realiza de manera alterna con la instalación que la empresa posee en Marbella, puerto base de la embarcación utilizada en dichas labores.

### 4.1.3. Caracterización ambiental.

La zona se caracteriza por un clima lluvioso y cálido, con una clara diferenciación entre la estación invernal y estival, de carácter netamente seco. Si bien la temperatura media anual oscila entre los 11,6°C en invierno y 25,2°C en verano, la mínima en enero es de 6,2°C y la máxima en agosto de 31,5°C. La orientación Este-Oeste y la situación geográfica del polígono de cultivo, determinan una mayor influencia de los vientos de levante, si bien estos son flojos durante la mayor parte del año. El régimen hidrodinámico se caracteriza por una dirección predominante Oeste, y en menor medida hacia el Este-Sureste (Figura 4.3) (Macías et al., 2005).

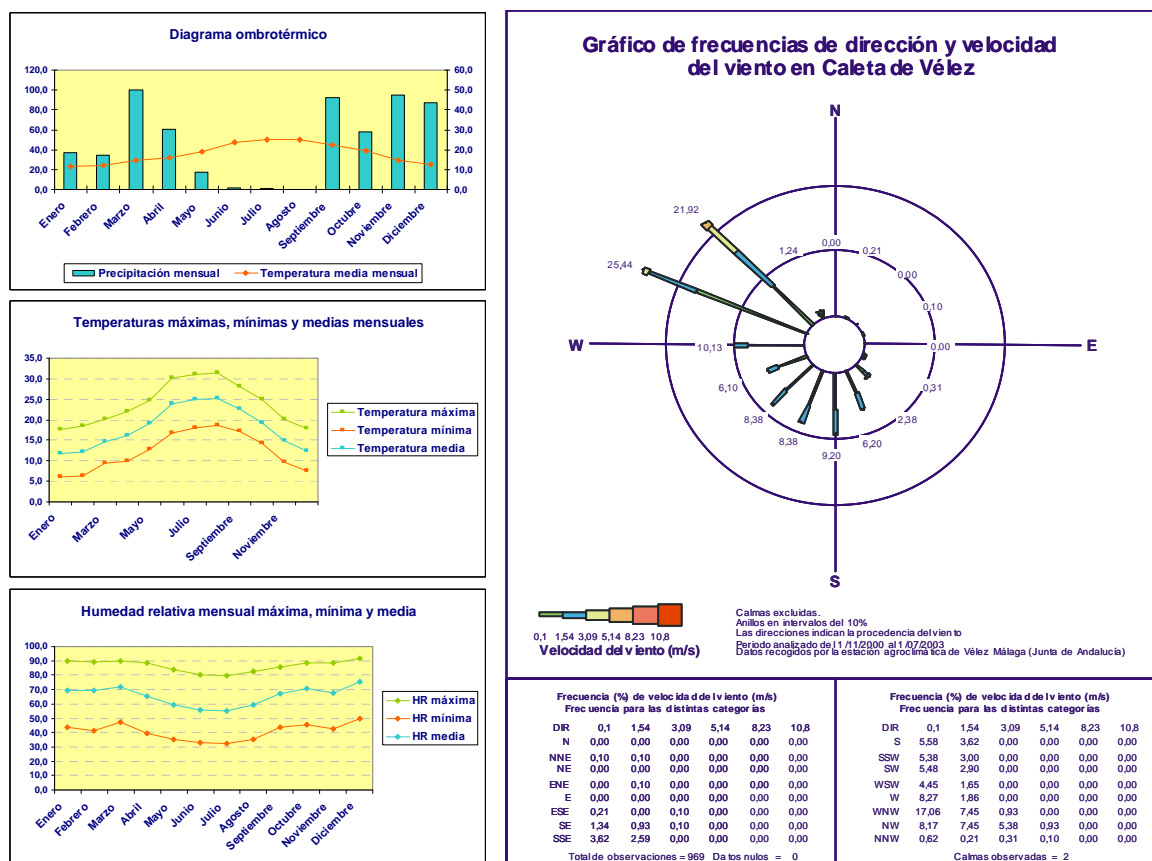
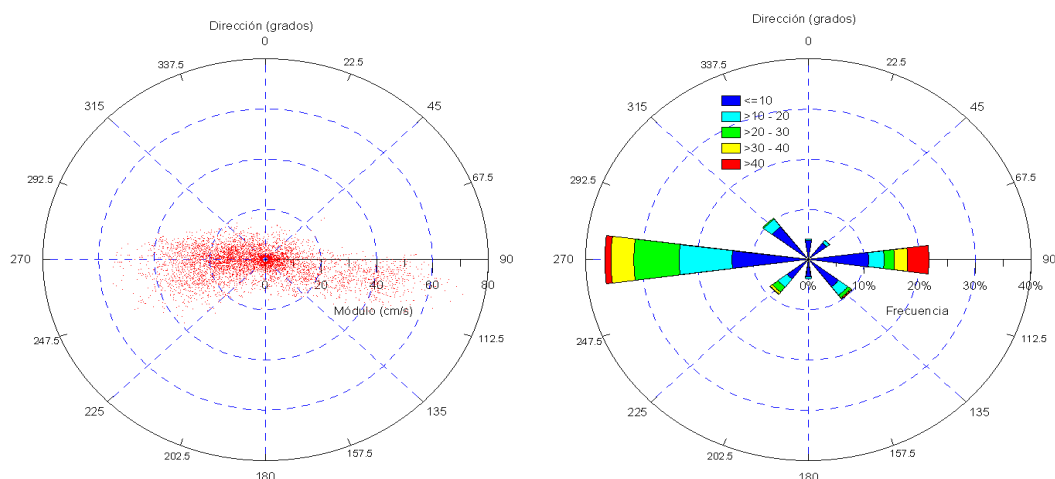


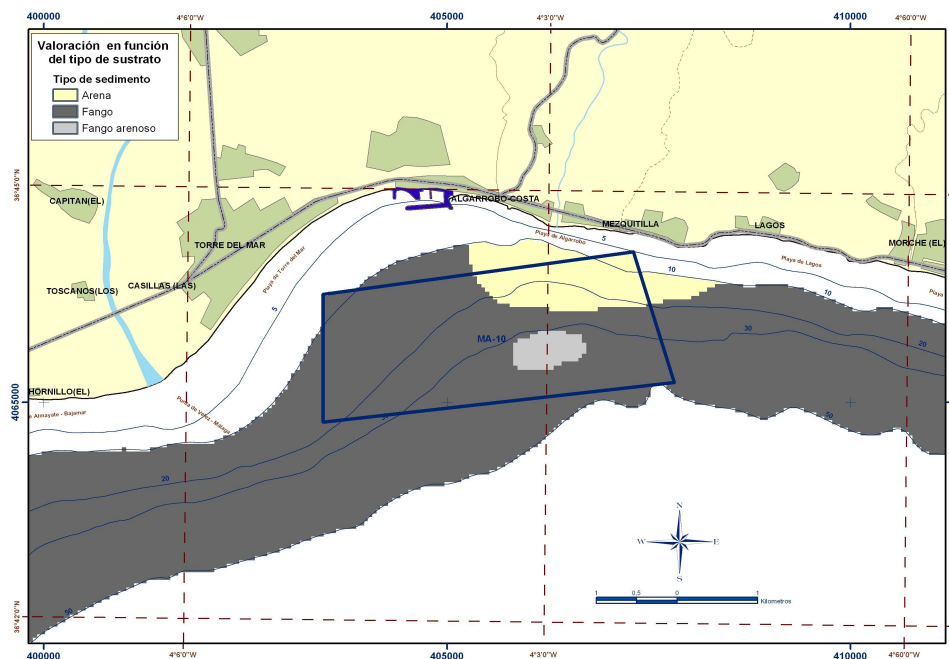
Figura 4.3 Características climatológicas de la zona de Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

Las corrientes principales son las provenientes del Oeste y el Este, si bien estas últimas son más intensas aunque menos frecuentes, generadas por vientos del Este y el Oeste respectivamente (Figura 4.4). Estas corrientes alcanzan valores máximos de  $16 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  para vientos del Este y  $17.8 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  para vientos del Oeste.



**Figura 4.4** Diagrama polar y rosa de corrientes obtenida durante fondeo a 10 metros en verano de 2002. **Fuente:** F P DAP

La profundidad media del polígono es de 25 m, con valores mínimos y máximos de 10 y 40 m respectivamente, si bien las bateas se encuentran a una profundidad media de 20 metros. El sustrato del fondo es predominantemente fangoso, con una pequeña zona de sustrato fango-arenoso y una franja de arena en su extremo noreste (Figura 4.5).



**Figura 4.5** Caracterización del sedimento existente la zona de Caleta de Vélez. **Fuente:** E.P. DAP

Es preciso reseñar la presencia de praderas de fanerógamas marinas en zonas cercanas al polígono, así como una zona de extracción de áridos en las inmediaciones. Frente a la zona de levante del polígono se encuentra un emisario que se corresponde con un aliviadero de un arroyo cercano, además de varias zonas de interés arqueológico a levante y poniente.

## 4.2 Experiencia II: Cultivos marinos de Andalucía, Marbella (Málaga)

### 4.2.1. Localización geográfica.

Esta instalación se sitúa en las cercanías del Puerto Pesquero de Marbella (Figura 4.6), en la zona oriental de dicha localidad, en la provincia de Málaga. Su situación geográfica le hace ocupar una posición intermedia en las instalaciones estudiadas.

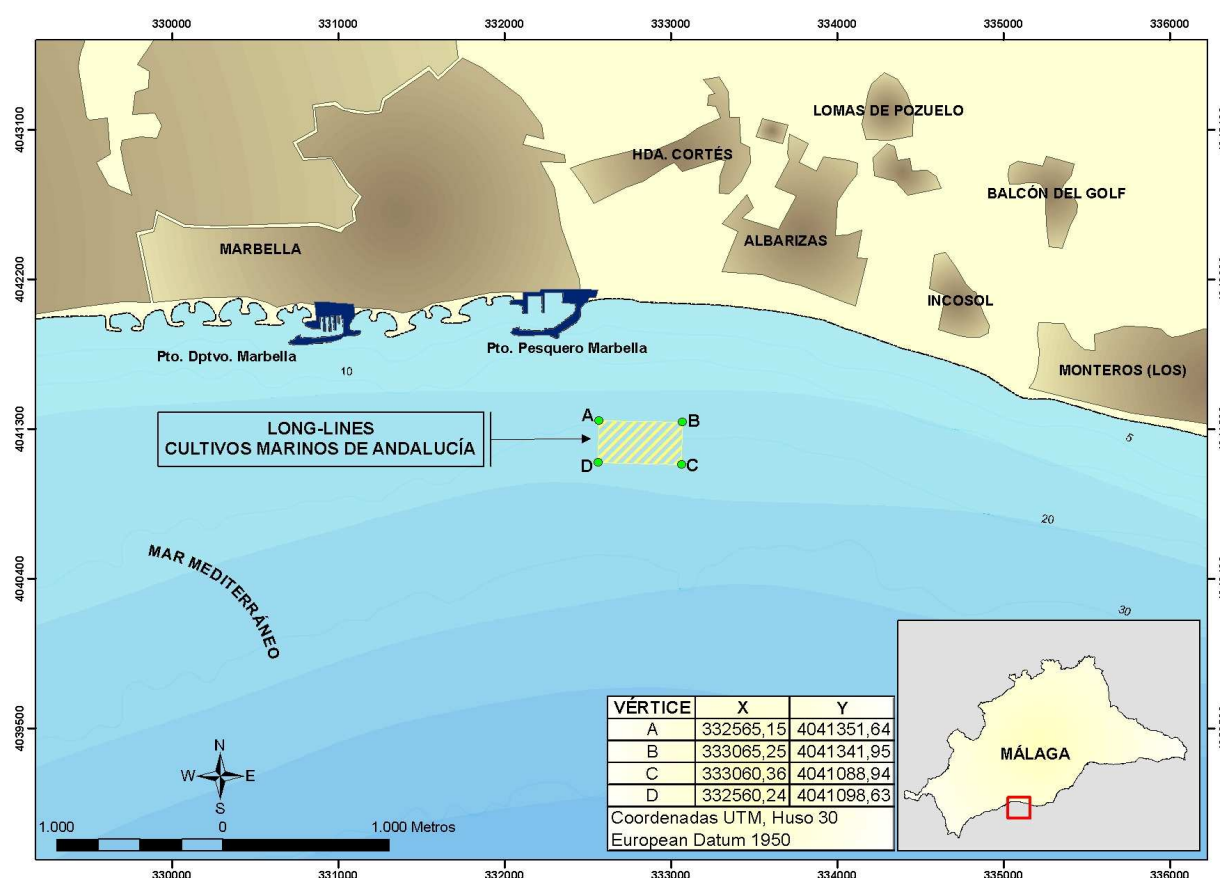


Figura 4.6 Situación long-lines en la instalación de cultivo de Marbella. Fuente: E.P. DAP

### 4.2.2. Instalaciones y actividad desarrollada.

Al igual que en Caleta de Vélez, la instalación de Marbella pertenece a la empresa Cultivos Marinos de Andalucía, S.L., aunque en este caso el cultivo de mejillón se dispone en 10 líneas flotantes o long-lines de 200 metros de longitud cada uno (Fotografía 4.2), y no en bateas de madera.

De ellas cuelgan cuerdas destinadas tanto al engorde como a la recolección de semilla. A diferencia de Caleta de Vélez, la instalación de Marbella comenzó a producir mejillón en el año 2002.



**Fotografía 4.2** Long-lines en la instalación de Marbella. **Fuente:** E.P. DAP

#### 4.2.3. Caracterización ambiental.

El clima en esta zona es de tipo húmedo y cálido con estación invernal y estival bien diferenciadas, siendo esta última de carácter seco.

Las temperaturas medias oscilan entre 12,4°C y 25,6°C, con un valor mínimo en febrero de 9,1°C y 30,7°C en agosto.

Las precipitaciones anuales son más abundantes que en Caleta de Vélez, concentrándose en los meses más fríos.

Los vientos predominantes proceden de levante con intensidad media y de poniente con intensidad media-alta (Figura 4.7).

Esta zona se encuentra muy influenciada por la corriente atlántica entrante por el Estrecho de Gibraltar. La trayectoria del flujo entrante determina el afloramiento casi permanente de aguas frías (entre 14°C y 22°C) y ricas en nutrientes que fertilizan esta franja costera (Ramírez et al., 2005; Reul et al., 2005).

Esta circunstancia determina corrientes importantes, así como elevados niveles de productividad primaria en la zona de cultivo. Las corrientes predominantes en esta zona son hacia el Oeste y Noreste, con valores que oscilan entre 0 y 40 cm·s<sup>-1</sup> (Figura 4.8), generadas por vientos del Este principalmente.

Es preciso destacar la importancia de la actividad turística en este municipio, uno de los más importantes de la provincia de Málaga, abriendo posibilidades a un mercado local con gran potencial.

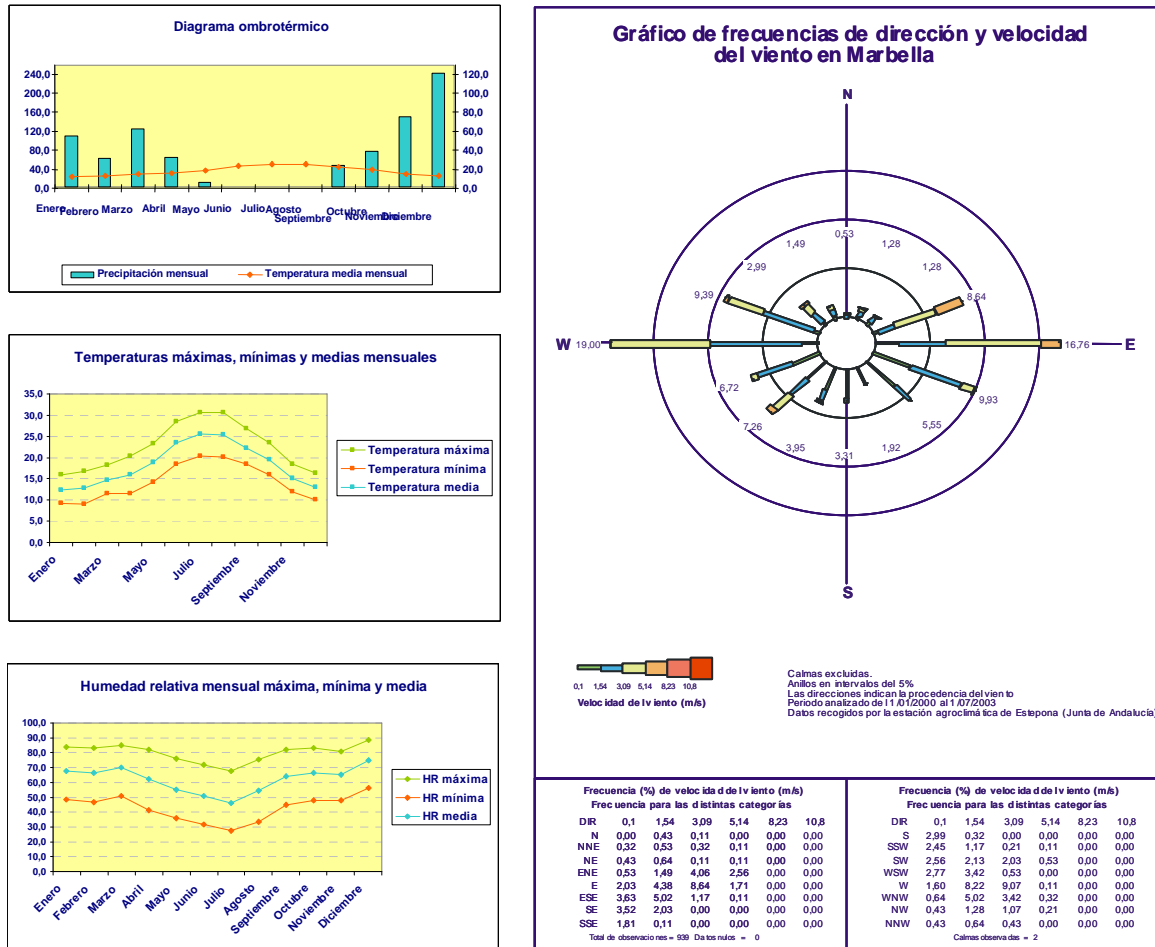


Figura 4.7 Características climatológicas de la zona de Marbella. Fuente: E.P. DAP

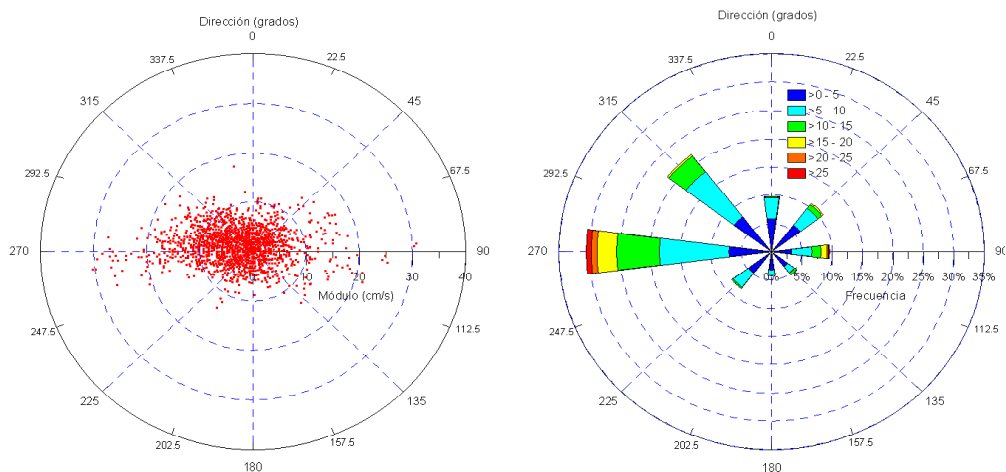


Figura 4.8 Diagramas polares y rosas de corrientes obtenidas a partir de los datos del correntímetro fondeado en Marbella. Fuente: E.P. DAP

### 4.3 Experiencia III: Pescados y Mariscos Mar de la línea, La Línea de la Concepción (Cádiz)

#### 4.3.1. Localización geográfica.

Esta instalación se localiza frente a la playa de la Atunara, en la localidad gaditana de La Línea de la Concepción, al Suroeste del Puerto de la Atunara (Figura 4.9). Situada en las inmediaciones del Estrecho de Gibraltar, constituye la instalación más occidental del Mediterráneo Andaluz, lo que determina una fuerte influencia de la masa de aguas Atlánticas entrantes a través del Estrecho.

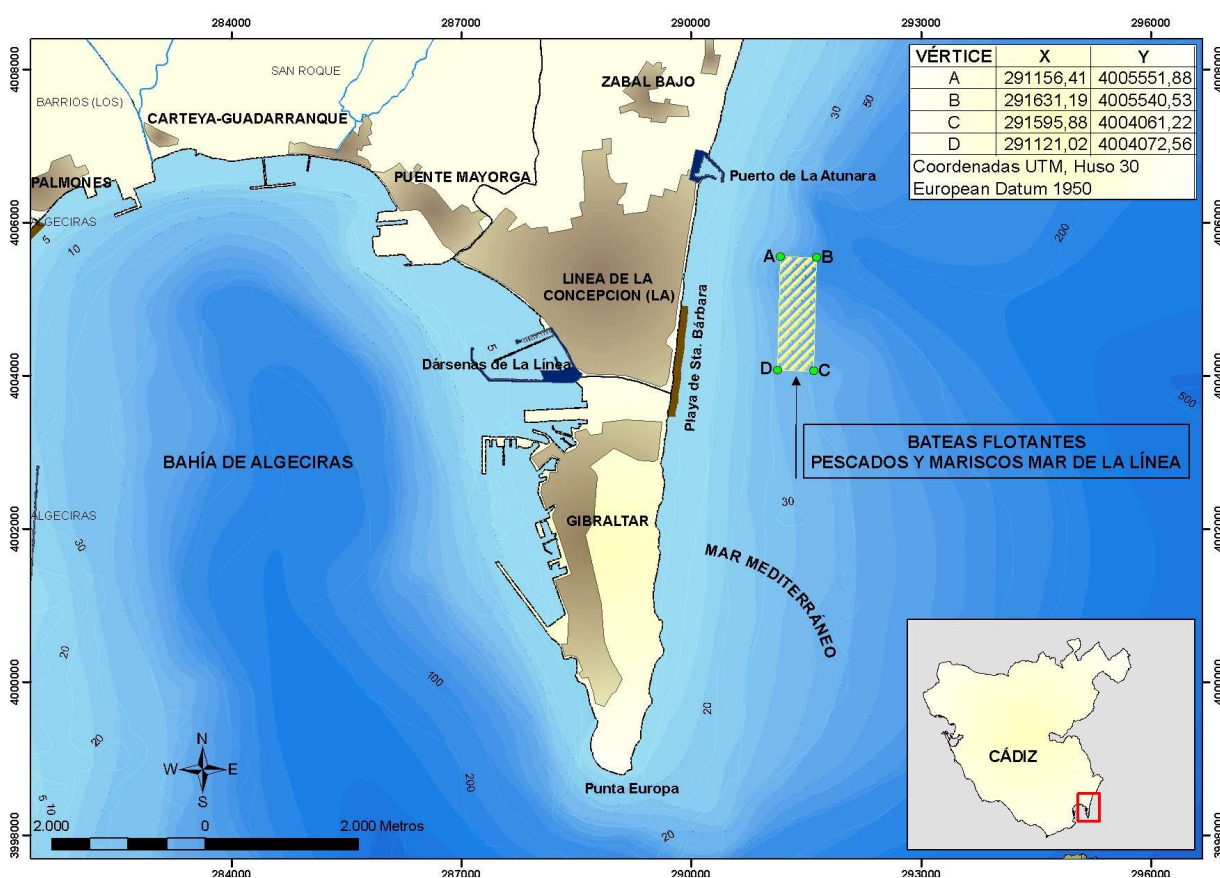


Figura 4.9 Situación de las bateas en la instalación de La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP

#### 4.3.2. Instalaciones y actividad desarrollada.

La instalación de la Línea de la Concepción, propiedad de la empresa Pescados y Mariscos Mar de La Línea, S.L., es la más antigua de las existentes en las costas andaluzas, ya que inició su actividad en año 2000. Si bien inicialmente constaba de un total de 10 bateas de madera, en la actualidad la explotación consta de 5 bateas flotantes (Fotografía 4.3). Al igual que en el resto de instalaciones estudiadas, en ella se llevan a cabo tareas destinadas al engorde del mejillón y a la captación de semilla.





Fotografía 4.3 Bateas en la instalación de La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP

### 4.3.3. Caracterización ambiental.

Al igual que en las zonas anteriores, el clima de la zona presenta un carácter húmedo y cálido, si bien las precipitaciones anuales son mayores que la áreas ya mencionadas. Las temperaturas medias son algo más suaves, oscilando entre los 12,4°C de enero y los 25,6°C de agosto. Los valores mínimos y máximos se registran en febrero (9,1°C) y agosto (30,7°C) respectivamente. Los vientos presentan una componente predominante del Este y del Oeste, con intensidad media en el primer caso y media-alta en el segundo (Figura 4.10) .

Las corrientes predominantes son hacia el Sur, Este y Sureste, con velocidades máximas de 34 cm·s<sup>-1</sup> en la primera componente (Figura 4.11). Estos valores son claramente mayores que los descritos en las instalaciones anteriores, poniendo de manifiesto una hidrodinámica más intensa en esta zona.

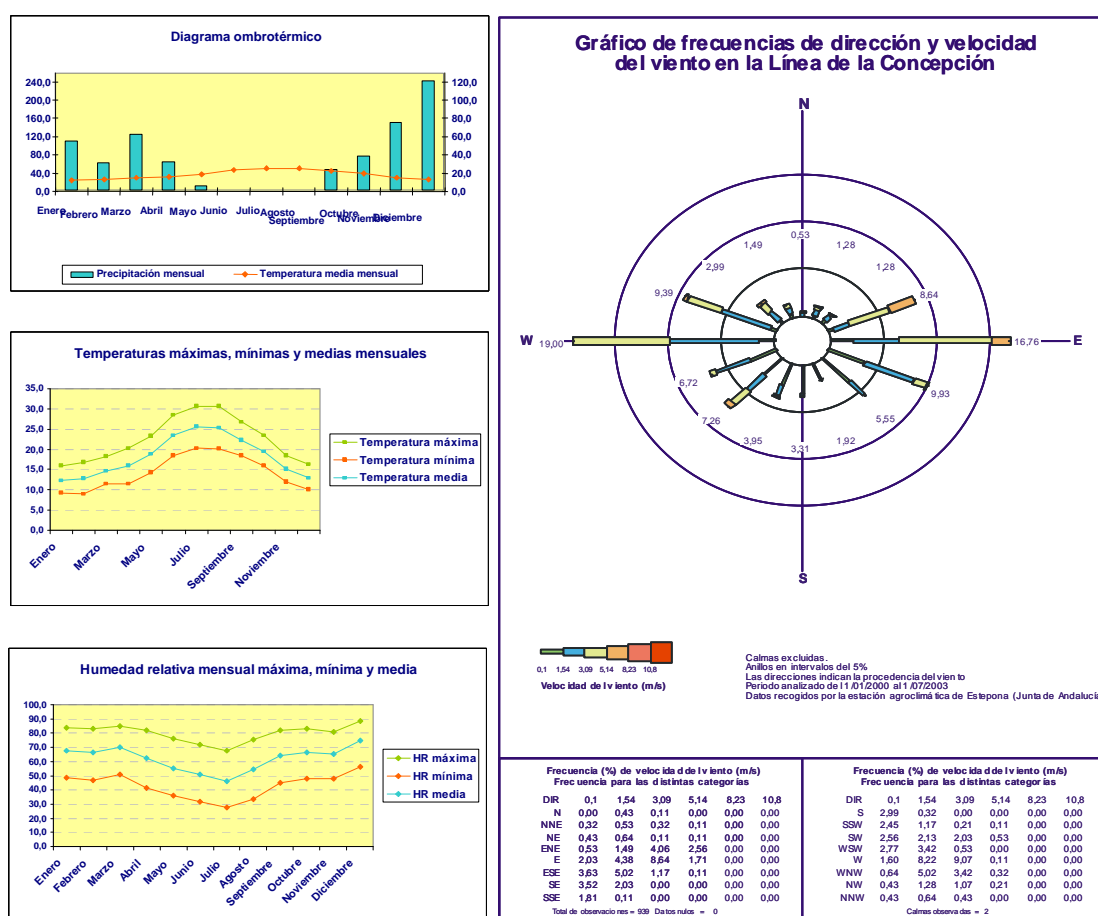
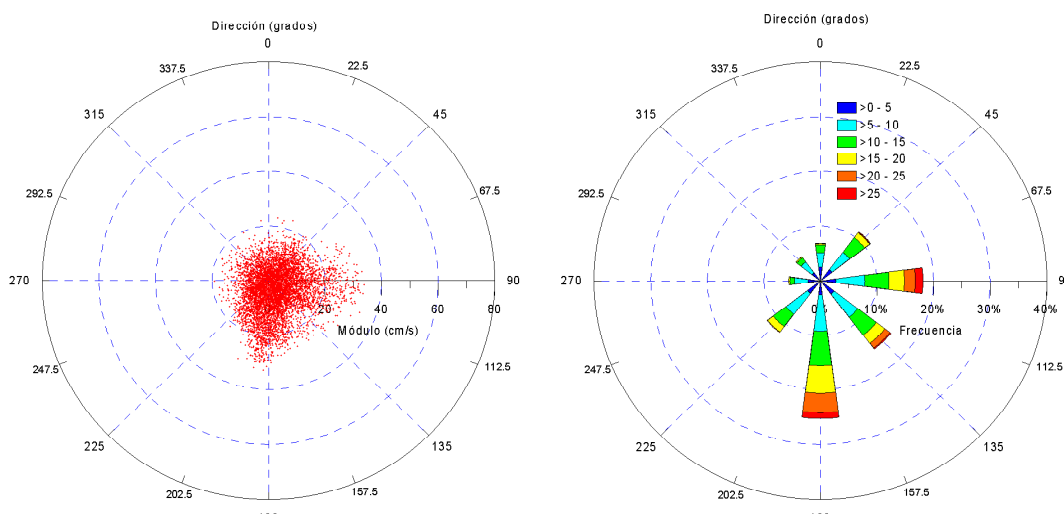


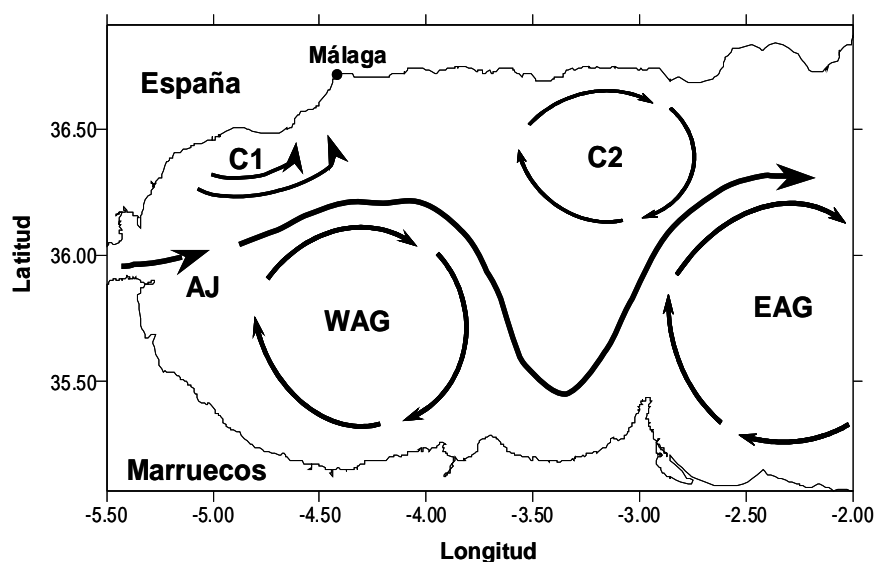
Figura 4.10 Características climatológicas de La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP



**Figura 4.11** Diagrama polar y rosa de corrientes obtenidos a partir de los datos registrados por el correntímetro. Fuente: E.P. DAP

Este potente patrón hidrodinámico es consecuencia de la penetración de aguas atlántica a través del Estrecho de Gibraltar (Figura 4.12)., que se sitúa ocupando la capa más superficial (dadas sus características más frías y menos salinas).

Esta circulación determina la presencia de un importante afloramiento costero que se extiende hasta la zona más occidental de la provincia de Málaga (Viúdez et al., 1996; Sarhan et al., 2000). Esta circunstancia determina niveles elevados de productividad primaria en la zona, así como de aguas más frías.



**Figura 4.12** Esquema patrón de circulación superficial en el Mar de Alborán con las principales estructuras hidrológicas: Chorro de agua Atlántica (AJ), Giro Anticiclónico Occidental (WAG), Giro Anticiclónico Oriental (EAG) y dos giros ciclónicos (C1 y C2). Fuente: P. León (Redibujado de Tintoré et. Al.. 1998.)

La profundidad media del polígono es de 50 m, con valores mínimos y máximos de 46 y 65 m respectivamente. El sustrato del fondo es arenoso, con una zona muy pequeña de tipo rocoso (Figura 4.13). En las cercanías del polígono se sitúan varias zonas de vertidos y emisarios, así como un área de interés militar, y varias zonas de interés arqueológico.

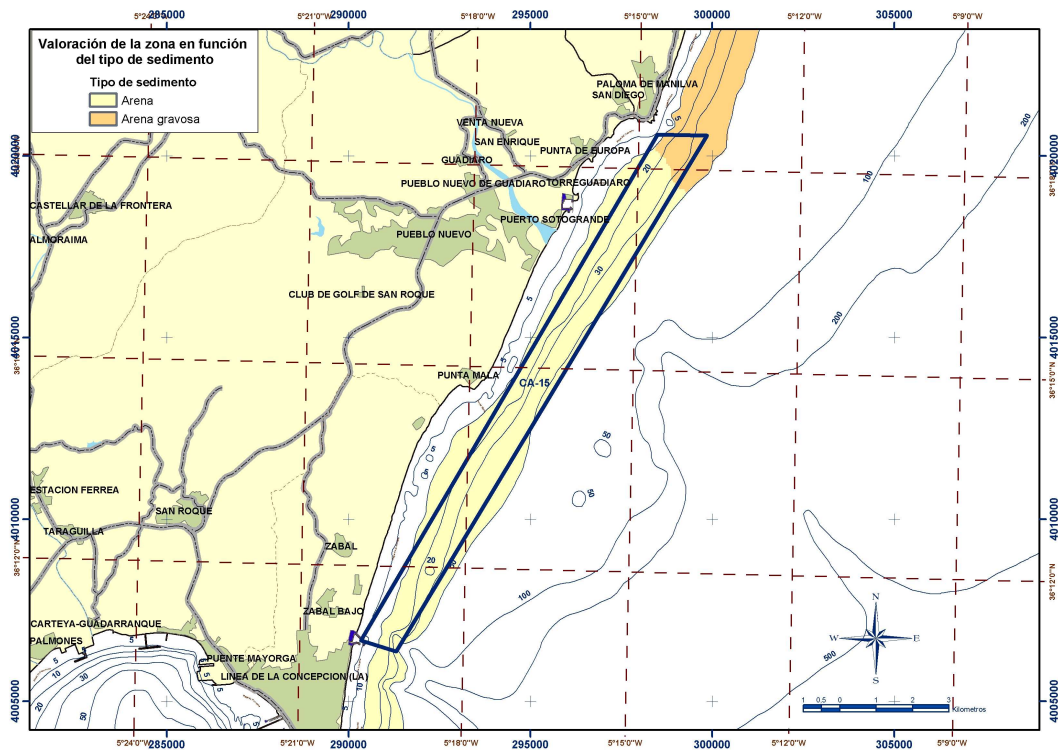


Figura 4.13 Tipo de sedimento existente en la zona de La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP



## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---



## 5. MATERIAL Y MÉTODOS.

### 5.1 Monitorización ambiental

Uno de los objetivos planteados en este proyecto es la relación de los diversos aspectos estudiados (tales como índices de condición, el crecimiento y fijación de semilla) con las condiciones ambientales existentes en las zonas de cultivo. El conocimiento de dichas condiciones puede ser también de utilidad para la determinación de las zonas más adecuadas para el cultivo de mejillón.

Para ello se ha llevado a cabo la instalación de diversos equipos de monitorización ambiental (correntímetros y fluorómetros) en las instalaciones estudiadas, con la intención de obtener series temporales de temperatura, fluorescencia, turbidez y corrientes en las zonas de cultivo.

Dada la limitación de equipos disponibles ha sido necesario realizar una selección de zonas y periodos de fondeo de los equipos de monitorización. La elección de las estaciones de fondeo responde a un criterio práctico y se ha realizado en función de la información bibliográfica y series de datos previas disponibles en cada una de las zonas de estudio.

En cualquier caso, la caracterización de aquellas instalaciones donde no ha sido posible el fondeo de equipos o existe alguna discontinuidad en los registros en la serie de datos obtenida ha sido completada con el análisis de series de datos oceanográficos obtenidos mediante sondas CTD durante los muestreos periódicos realizados por el Laboratorio de Control y Calidad de los Recursos Pesqueros de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Estos se desarrollan en 17 estaciones del litoral andaluz, incluyendo las zonas de estudio que nos ocupan, con una frecuencia semanal.

Los perfiles obtenidos incluyen parámetros como la temperatura, salinidad, clorofila, oxígeno disuelto y turbidez hasta los 20 metros de profundidad. Para este estudio se han empleado los datos correspondientes a los años 2007, 2008 y 2009.

Finalmente, dado que el régimen de vientos predominante en las zonas de producción puede ejercer una gran influencia en el patrón hidrodinámico presente en las mismas, y por lo tanto en las condiciones de cultivo del mejillón, se ha realizado un análisis adicional de series temporales de viento provenientes de distintas fuentes. De esta manera se pretende completar la caracterización ambiental de las instalaciones de cultivo.

En este caso, se ha acudido al conjunto de datos WANA de Puertos del Estado, y a la Red de Estaciones Agroclimáticas de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (Fotografía 5.1). Para ello se han elaborado diagramas de caracterización de direcciones, velocidades y frecuencias de vientos (rosa de los vientos) mediante el programa Grapher (Golden Software Inc.).



Fotografía 5.1 Estación agroclimática de Vélez-Málaga

### 5.1.1 Experiencia I: Cultivos Marinos de Andalucía, Caleta de Vélez (Málaga)

De las tres instalaciones estudiadas, ésta ha sido la última en comenzar su actividad, por lo que la información ambiental previa al proyecto existente acerca de la misma es menor. Esta circunstancia determinó la selección de esta zona de cultivo para el fondeo de varios equipos de monitorización ambiental. En concreto se instalaron un fluorómetro WETLabs FLNTUSB (Fotografía 5.2) y un correntímetro NORTEK Aquadopp (Fotografía 5.3).

El primer equipo consta de sensores de fluorescencia, temperatura y turbidez, mientras que el segundo proporciona datos relativos a la dirección e intensidad de la corriente a diferentes profundidades, permitiendo conocer la velocidad horizontal y vertical en distintos estratos de la columna de agua.



Fotografía 5.2 Fluorómetro WETLabs FLNTUSB y sistema de fondeo. Fuente: E.P. DAP

El fluorómetro permaneció fondeado en la batea 2 del polígono de cultivo (Fotografía 5.2), a una profundidad de 6 metros de manera continua entre los meses de diciembre de 2007 y junio de 2009.

Los datos fueron descargados mensualmente y procesados posteriormente en el laboratorio para conocer la evolución temporal y los valores medios de las variables estudiadas.

Con la intención de caracterizar el régimen hidrodinámico en la zona en dos periodos distintos, el correntímetro fue fondeado durante dos meses: en la primavera-verano de 2008 (22/05/2008-11/09/2008) y el invierno de 2009 (20/01/2009-1/04/2009).

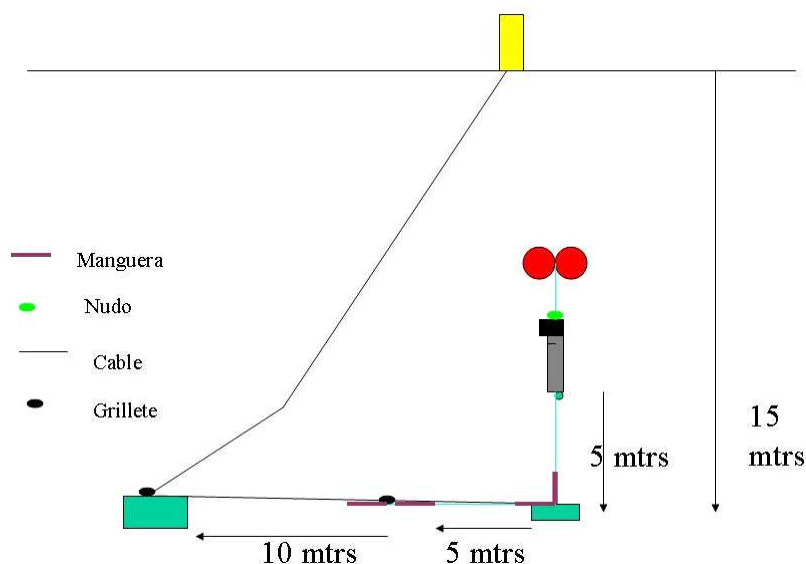
Su instalación se realizó en la zona más expuesta del polígono, a una profundidad de 10 y 20 metros



Fotografía 5.3 Correntímetro NORTEK Aquadopp. Fuente: E.P. DAP



respectivamente, según el esquema de la Figura 5.1. Una vez recuperado el equipo se procedió a la descarga de los datos y análisis de los mismos así como a la elaboración del estudio de corrientes correspondiente. Para el desarrollo de estas tareas se contó con la colaboración de la Unidad de Apoyo Técnico en Acuicultura de la E.P. DAP.



**Figura 5.1** Esquema de fondeo de fluorómetro utilizado en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

### 5.1.2 Experiencia II: Cultivos Marinos de Andalucía, Marbella (Málaga)

La zona de Marbella se caracteriza por la existencia de un afloramiento costero casi permanente como consecuencia del patrón de circulación general existente en el Mar de Alborán (Cano, 1978; Gil, 1985; Viúdez et al., 1996; Sarhan et al., 2000).

Esta circunstancia confiere a esta zona unas condiciones características de temperatura y elevados niveles de productividad que han atraído el interés de diversos proyectos científicos, por lo que la información previa disponible es más abundante que en el resto de instalaciones estudiadas.

Por ello, la caracterización ambiental de esta zona se ha realizado a partir del análisis de la bibliografía previa, y se ha completado con el análisis de series de temperatura, salinidad y fluorescencia provenientes de los muestreos realizados por el Laboratorio de Control y Calidad de los Recursos Pesqueros de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

### 5.1.3 Experiencia III: Pescados y Mariscos Mar de la Línea, La Línea de la Concepción (Cádiz)

La instalación de La Línea de la Concepción presenta una serie de características, como son la profundidad y una intensa hidrodinámica, que dificultan la instalación de los equipos de monitorización. Ante estas circunstancias se optó por la instalación de un fluorómetro a una profundidad de 6 metros en la batea 10. Sin embargo los temporales ocurridos en la zona y

problemas técnicos con el equipo utilizado determinaron que el periodo de fondeo fuera únicamente de dos meses, correspondiente al periodo mayo-junio de 2008.

Por ello, y considerando la escasez de bibliografía referente a esta zona, la principal fuente de datos utilizados para la caracterización ambiental de la instalación ha sido la proporcionada por las sondas de CTD utilizadas en los muestreos del Laboratorio de Control y Calidad de los Recursos Pesqueros de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

## 5.2 Línea 1: estudio del crecimiento e índices de condición de las poblaciones cultivadas mediante los diferentes sistemas y zonas geográficas.

En esta línea de actuación se incluyen algunos de los aspectos de mayor interés en el cultivo del mejillón, como son el crecimiento de la semilla y la evolución de los índices de condición (IC). Estos aspectos determinan la gestión del cultivo, incidiendo especialmente en su duración y en el momento de mayor rendimiento del mismo.

Las actividades llevadas a cabo pretenden además determinar la influencia de diversos factores ambientales (tales como abundancia fitoplanctónica, temperatura, turbidez y condiciones hidrodinámicas), que puedan afectar al crecimiento, supervivencia y rendimiento de la especie en cultivo.

Adicionalmente, a partir de las medidas obtenidas para el cálculo de los índices de condición se han estudiado otros aspectos del cultivo como la fijación de epifauna sobre la concha del mejillón, relación piezas-kilogramo, e índices alométricos. El interés de estas líneas de trabajo subyace en la gran importancia de aspectos como la forma de la concha, tamaño de los individuos e impacto de epibiontes para la comercialización del mejillón.

### 5.2.1 Diseño de la experiencia y campañas de muestreo.

El desarrollo de las experiencias incluidas en esta línea de trabajo se ha llevado a cabo de forma paralela, de modo que en cada uno de los muestreos realizados en las distintas instalaciones de cultivo se han tomado simultáneamente muestras para el estudio del crecimiento y de los índices de condición.

El estudio del crecimiento de las poblaciones cultivadas se desarrolla a través de sus distribuciones de talla. Éstas se obtienen a partir del análisis biométrico de las poblaciones, midiendo la longitud antero-posterior de los individuos muestreados. Una vez conocidas las distribuciones de talla promedio es posible determinar la tasa de crecimiento mediante la diferencia de la talla media en un intervalo temporal dado.

Si bien este método es rápido y sencillo, se ha utilizado el software gratuito FISAT II, distribuido por la FAO (<http://www.fao.org/fi/statist/fisoft/fisat/index.htm>), para la descomposición de la población en cohortes según el método de Bhattacharya (1967). Esta estrategia permite evitar posibles errores en las distribuciones de talla obtenidas como consecuencia de procesos naturales, tales



Fotografía 5.4 Encordado de semilla obtenida tras el desdoble. Fuente: E.P. DAP

como la fijación de juveniles, y la manipulación de la población de cultivo, por ejemplo, durante las tareas de desdoble (Fotografía 5.4).

A lo largo del proyecto se ha realizado el seguimiento de la semilla de dos ciclos de cultivo diferentes, correspondientes a semilla obtenida en 2007 y 2008. Las poblaciones seleccionadas para el estudio del crecimiento han sido diferentes en cada instalación, como consecuencia del estado del cultivo en cada una de ellas al comienzo de la experiencia.

En todos los casos se ha seleccionado la población de menor talla disponible en cada momento.

En el primer ciclo, en Caleta de Vélez y Marbella se optó por estudiar la semilla fijada en cuerdas colectoras de la empresa, mientras que en La Línea de la Concepción el estudio se ha centrado en el mejillón de menor talla procedente del desdoble de cuerdas sembradas en 2006. A comienzos de 2009, y una vez que el mejillón correspondiente al primer ciclo alcanzó la talla comercial (en torno a los 7-10 cm; (Pérez Camacho et al., 1991)), se comenzó el seguimiento de un segundo ciclo de cultivo.

En las instalaciones de Caleta y Marbella se seleccionó la semilla procedente de la fijación producida en cuerdas colectoras en Marbella durante la primavera de 2008, parte de las cuales fueron trasladadas a Caleta de Vélez. En el caso de la instalación de La Línea de la Concepción el segundo ciclo se realizó con semilla importada de Italia.

En todos los casos, para el estudio del crecimiento de la semilla se llevó a cabo el marcado de las cuerdas correspondientes a las poblaciones seleccionadas, de manera que el seguimiento se realizase siempre a partir de la misma población (Fotografía 5.5).



**Fotografía 5.5** Cuerdas marcadas para el seguimiento del crecimiento. **Fuente:** E.P. DAP

En relación con las poblaciones estudiadas, es preciso señalar que durante el año 2007 se realizó un análisis adicional de la distribución de tallas de semillas obtenidas en las bolsas colectoras utilizadas para el estudio de la fijación de la semilla.

Los resultados obtenidos determinaron el abandono de esta línea de trabajo a comienzos de 2008, ya que las condiciones de desarrollo en el interior de la bolsa, con una menor disponibilidad de alimento (como consecuencia de la menor exposición a la corriente),

eran significativamente diferentes a la de la semilla fijada en las cuerdas. Esta circunstancia no permite la comparación de los resultados obtenidos con el crecimiento experimentado por la semilla fijada en las cuerdas, que se encuentran en contacto constante con el medio.

El estudio de los índices de condición se ha planteado desde una doble vertiente: la obtención de información sobre el estado reproductivo de las poblaciones de mejillón y la evaluación de su rendimiento en carne (Lucas & Beninger, 1985). Si bien en el caso del mejillón, ambos aspectos están muy relacionados, el estado reproductivo de los individuos sólo puede ser claramente determinado mediante el estudio histológico de la población.

El proyecto "Mytilidos: expansión y sostenibilidad" no ha incluido este tipo de análisis, dado que el ciclo reproductor del mejillón cultivado en Andalucía ha sido tratado en estudios previos (Tirado & Macías, 2006). Esta circunstancia ha permitido la comparación de los IC obtenidos en este proyecto con los resultados recogidos en aquel trabajo previo.

En cualquier caso ambos aspectos son de gran interés para la industria mejillonera, por lo que es importante una selección de IC adecuados. Para ello es necesario tener en cuenta diversos aspectos:

- *Objetivo* que se pretende estudiar (estado fisiológico, reproductivo, o producción de biomasa).
- *Tipo de organismo estudiado*. Este aspecto es especialmente importante en estudios reproductivos, ya que existe una importante variabilidad en las gónadas entre bivalvos.
- *Estadío*. Normalmente dependiendo del objetivo se trabaja con individuos adultos (ciclos reproductivos) o con semilla (seguimiento temporal del rendimiento).

Si bien en la literatura científica se recogen diversos índices de condición para el mejillón, y las medidas realizadas en este estudio permiten el cálculo de un gran número de ellos, se han seleccionado tres, con la intención de conocer el estado de condición y rendimiento de las poblaciones sin utilizar información redundante. Los índices de condición seleccionados han sido el índice (IC 1) de Freeman (1974), y los índices (IC 2 e IC 3) de Hickman & Illingworth (1980):

$$IC\ 1 = \frac{PSV}{PSC} \times 100; \quad IC\ 2 = \frac{PSV}{(PV - PSC)} \times 100; \quad IC\ 3 = \frac{PFV}{PV} \times 100,$$

donde PSV es el peso seco de la vianda, PSC el peso seco de la concha, PV el peso vivo (es decir del individuo completo incluyendo el agua intervalvar), y PFV el peso fresco de la vianda.

Los índices IC 1 e IC 2 determinan el estado fisiológico del individuo, a partir de la proporción de pesos secos de vianda con respecto a la concha, y respecto al peso vivo respectivamente. El IC 3 determina el rendimiento en carne del individuo, mediante la relación entre la vianda y el peso total.

Los muestreos se realizaron entre mayo de 2007 y mayo de 2009 con una periodicidad mensual en las tres zonas de cultivo estudiadas, utilizando para ello las embarcaciones propias de las empresas productoras.

Adicionalmente, para el estudio de los índices de condición se realizaron muestreos quincenales en octubre y noviembre de 2007, aprovechando los muestreos realizados por el Laboratorio de Control y Calidad de los Recursos Pesqueros. Así, se han realizado un total de

51 muestreos para el estudio del crecimiento de la semilla de mejillón y 72 para los índices de condición (Tablas 5.1 y 5.2).

El menor número de muestreos para el estudio del crecimiento en La Línea de la Concepción se debe a la pérdida de las cuerdas de seguimiento como consecuencia de daños (Figura 5.6) producidos en la instalación durante temporales de levante en febrero de 2008.

**Tabla 5.1** Fechas muestreos crecimiento semilla mejillón

Muestreo	Caleta de Vélez	Marbella	La Línea de la Concepción
Mayo 2007	22/05/2007		29/05/2007
Julio 2007	13/07/2007	19/07/2007	12/07/2007
Agosto 2007	23/08/2007	27/08/2007	
Septiembre 2007	27/09/2007	28/09/2007	03/09/2007
Octubre 2007	23/10/2007	30/10/2007	02/10/2007
Noviembre 2007	27/11/2007	29/11/2007	21/11/2007
Diciembre 2007	12/12/2007	13/12/2007	
Enero 2008	30/01/2008	22/01/2008	31/01/2008
Febrero 2008	26/02/2008	21/02/2008	
Marzo 2008	27/03/2008	25/03/2008	
Abril 2008	23/04/2008	15/04/2008	
Mayo 2008	22/05/2008	15/05/2008	
Junio 2008	17/06/2008	19/06/2008	
Julio 2008	23/07/2008	15/07/2008	
Agosto 2008			
Septiembre 2008	11/09/2008	02/09/2008	
Octubre 2008	16/10/2008	13/10/2008	
Noviembre 2008	13/11/2008	06/11/2008	
Diciembre 2008	03/12/2008	15/12/2008	
Enero 2009	20/01/2009	08/01/2009	
Febrero 2009	18/02/2009	20/02/2009	10/02/2009
Marzo 2009	23/03/2009	24/03/2009	25/03/2009
Abril 2009	23/04/2009	21/04/2009	27/04/2009



**Fotografía 5.6** Estado batea con cuerdas para el seguimiento del crecimiento en La Línea de la Concepción.  
Fuente: E.P. DAP

Tabla 5.2 Fechas muestreos índices condición mejillón

Muestreo	Caleta de Vélez	Marbella	La Línea de la Concepción
<b>Mayo 2007</b>	22/05/2007		29/05/2007
<b>Julio 2007</b>	13/07/2007	19/07/2007	12/07/2007
<b>Agosto 2007</b>	23/08/2007	27/08/2007	
<b>Septiembre 2007</b>	27/09/2007	28/09/2007	03/09/2007
<b>Octubre 2007</b>	23/10/2007	25/10/2007	02/10/2007
	30/10/2007	30/10/2007	24/10/2007
<b>Noviembre 2007</b>	12/11/2007	08/11/2007	13/11/2007
	27/11/2007	29/11/2007	21/11/2007
<b>Diciembre 2007</b>	12/12/2007	13/12/2007	
<b>Enero 2008</b>	30/01/2008	22/01/2008	31/01/2008
<b>Febrero 2008</b>	26/02/2008	21/02/2008	
<b>Marzo 2008</b>	27/03/2008	25/03/2008	04/03/2008
<b>Abril 2008</b>	23/04/2008	15/04/2008	
<b>Mayo 2008</b>	22/05/2008	15/05/2008	05/05/2008
			28/05/2008
<b>Junio 2008</b>	17/06/2008	19/06/2008	30/06/2008
<b>Julio 2008</b>	23/07/2008	15/07/2008	28/07/2008
<b>Agosto 2008</b>			26/08/2008
<b>Septiembre 2008</b>	11/09/2008	02/09/2008	
<b>Octubre 2008</b>	16/10/2008	13/10/2008	06/10/2008
<b>Noviembre 2008</b>	13/11/2008	06/11/2008	14/11/2008
<b>Diciembre 2008</b>	03/12/2008	15/12/2008	17/12/2008
<b>Enero 2009</b>	20/01/2009	08/01/2009	19/01/2009
<b>Febrero 2009</b>	18/02/2009	20/02/2009	10/02/2009
<b>Marzo 2009</b>	23/03/2009	24/03/2009	25/03/2009
<b>Abril 2009</b>	23/04/2009	21/04/2009	27/04/2009
<b>Mayo 2009</b>	28/05/2009	26/05/2009	25/05/2009

### 5.2.2 Tratamiento de muestras en laboratorio.

Para el estudio del crecimiento de la semilla se tomaron muestras mensualmente de una de las cuerdas marcadas en cada instalación y se conservaron congeladas hasta su análisis en el laboratorio. El tamaño muestral ha sido variable, dependiendo en gran medida del tamaño del mejillón en cada muestreo. No obstante, nunca ha sido inferior a 100 individuos por muestra.

La distribución de tallas se ha obtenido mediante medición de la longitud antero-posterior, empleando un calibre de 0.1 mm de precisión y redondeando al milímetro inferior (Fotografía 5.7), de la totalidad de los individuos presentes en la muestra, con la intención de eliminar cualquier sesgo de tamaño al dividirla.

Finalmente se ha obtenido el tamaño promedio de la muestra para el cálculo posterior de las tasas de crecimiento. A este respecto, se ha tenido en cuenta el efecto producido por la continua fijación de individuos en las cuerdas, que supone una disminución de la talla promedio de la muestra. Si bien su incidencia es diferente según la instalación y el momento del muestreo, se ha intentado disminuir su impacto en los datos finales. Para ello se han seguido diferentes estrategias:

- 1.- Eliminación de los ejemplares con talla menor al tamaño promedio de la semilla en el momento de la siembra.
- 2.- En aquellos casos en los que no se conocía dicho dato, se han eliminado los individuos con una talla menor a la talla promedio del primer muestreo, ya que considerando el crecimiento exponencial de la semilla en sus primeras fases de desarrollo, la semilla menor de esa talla promedio no debe corresponderse con la siembra inicial.
- 3.- Dado que las medidas anteriores no se mostraron efectivas en todos los casos, se optó por determinar la moda muestral, con la intención de determinar la talla (y por tanto el crecimiento) de la cohorte original.



**Fotografía 5.7** Medición longitud antero-posterior.  
Fuente: E.P. DAP

Si bien la obtención de muestras para el estudio de los índices de condición se realizó también de manera mensual, en ocasiones (octubre y noviembre de 2007) fue posible la obtención de muestras adicionales gracias a los muestreos periódicos realizados por parte del Laboratorio de Control de Calidad de los Recursos Pesqueros de la Consejería de Agricultura y Pesca. En todos los casos se tomó una muestra de mejillones adultos, que se conservaba en frío y se trasladaba en el menor tiempo posible al laboratorio para su inmediato análisis. De esta manera se trató de evitar que se pudiese producir algún tipo de pérdida de agua intervalvar durante el transporte de la muestra y antes de su análisis.

A lo largo del proyecto, con la intención de hacerlo lo más similar posible al utilizado habitualmente por los productores, el protocolo de toma y análisis de las muestras para el estudio de los IC experimentó ligeras modificaciones. Dichos cambios se refieren únicamente a la unidad muestral, que pasó de 30 ejemplares de mejillón adulto (mayores de 50 mm), a una muestra de 2 kg. En el laboratorio la muestra era pesada y se procedía al contaje e identificación de los individuos para la toma de diversas medidas según el siguiente protocolo:

- 1.- En primer lugar se procedía a la toma del peso vivo, es decir, el peso total de cada individuo, incluyendo el agua intervalvar y la concha con epibiontes.
- 2.- Una vez pesados, los individuos eran introducidos en unas redes numeradas, para que estuvieran identificados en todo momento. Posteriormente los mejillones eran cocidos al vapor durante 8,5 minutos en una olla de acero.

- 3.- Una vez extraídas las viandas, se escurrían sobre papel de filtro durante 10 minutos, tras los cuales se pesaban (peso fresco).
- 4.- Se tomaba el peso de las valvas cubiertas de fouling.
- 5.- Peso seco de las viandas, previamente desecadas en estufa a 100°C durante 24h (fotografía, y enfriadas en desecador con silica gel).
- 6.- Peso de las valvas limpias y secadas a temperatura ambiente durante 24 horas.
- 7.- Medida de la longitud antero-posterior, altura y grosor de cada individuo, empleando un calibre de 0.1 mm y redondeando al milímetro inferior.
- 8.- Estimación del volumen interno de las valvas, obtenido a partir del peso de arena enrasado en cada valva y de la densidad de la arena.

### 5.2.3 Análisis e interpretación de datos.

Todos los datos obtenidos han sido registrados en la base de datos del Laboratorio de Recursos Pesqueros y Acuícolas para su posterior tratamiento y análisis.

Para el estudio del crecimiento se realizó la distribución de tallas de cada muestra y se calculó el tamaño promedio y la moda de la misma. Posteriormente se procedió al cálculo de la tasa de crecimiento a partir de la diferencia de la talla promedio en un intervalo de tiempo determinado. Los índices de condición se calcularon a partir de las diversas variables medidas y de la formulación descrita anteriormente.

La identificación de los individuos permite estudiar los IC por rango de tamaño. Adicionalmente se calcularon diversos índices alométricos mediante la relación entre el volumen y altura de las valvas, así como IC y altura de las valvas.

A partir de la metodología seguida para la obtención de los índices de condición se han determinado otros aspectos como la cantidad de epifauna (*Balanus perforatus* y *Balanus eburneus* principalmente) fijada en la concha de los ejemplares (Fotografía 5.8).

Si bien este aspecto no se encuentra recogido en la propuesta del proyecto, resulta de gran interés para los productores, ya que determina el aspecto de los mismos y puede llegar a suponer una fracción importante del peso de su peso.

En nuestro caso la cantidad de epifauna se ha obtenido por diferencias entre el peso de las valvas con y sin epibiontes. Finalmente la medida final se obtiene estandarizando con el peso vivo de los ejemplares.





**Fotografía 5.8** Ejemplo de balano (*B. eburneus*) fijado a las valvas. **Fuente:** E.P. DAP

Para la comparación de los resultados obtenidos en cada instalación y entre ellas, así como para relacionarlos con las variables ambientales se emplearon diversos tests estadísticos como :

- ❑ Análisis de Correlación
- ❑ t- Student
- ❑ Análisis de la Varianza

Utilizando para ello los paquetes estadísticos SPSS (SPSS Inc. 1989-2005) y SigmaStat, versión 3.1 (Systat Software, Inc. 2004).

El *análisis de correlación* permite determinar el grado de asociación entre dos variables (por ejemplo, tasas de crecimiento y rendimiento con la temperatura o la disponibilidad de alimento). El objetivo de este test es estimar la intensidad de la asociación observada entre cualquier par de variables y probar si es mayor de lo que cabría esperarse si ambas variables se relacionaran únicamente al azar. En nuestro caso se ha utilizado el coeficiente de correlación producto-momento de Pearson (1896), representado habitualmente por  $r$  y que se obtiene tipificando el promedio de los productos de las desviaciones de la media en las dos variables en cuestión. El análisis de regresión se diferencia del anterior en que permite determinar la relación funcional existente entre las dos variables analizadas (dos variables pueden covariar y no estar relacionadas funcionalmente). De manera que con este test se busca una relación causa-efecto entre ellas. En este estudio se ha utilizado para estudiar, y en su caso reflejarla, la relación entre las variables ambientales y aspectos como el crecimiento o el rendimiento en carne del mejillón.

Por su parte, la *t-Student* es un procedimiento utilizado para conocer si las diferencias entre dos conjuntos de datos son o no estadísticamente significativas. Para ello se compara si las diferencias de las medias aritméticas de ambos grupos son mayores que la que podría obtenerse como consecuencia de la variación muestral al azar. En este test establece como

hipótesis nula que las medias de los grupos comparados son las mismas. Por lo tanto si el test rechaza dicha hipótesis podemos establecer que dichos conjuntos de datos son significativamente distintos. Este test ha sido por tanto de gran utilidad para conocer (por ejemplo) si las condiciones ambientales observadas en dos épocas diferentes son estadísticamente diferentes o no.

Finalmente, el *análisis de la varianza* (ANOVA) es una generalización del test anterior, pero aplicado a varios conjuntos de datos. Esta prueba permite comparar el efecto de uno o varios factores sobre dichos grupos, y en el caso de que existan diferencias significativas, determina el grado de influencia de cada factor. En concreto, se ha utilizado para conocer si algún factor ambiental (temperatura o disponibilidad de alimento) tiene un efecto estadístico sobre el crecimiento y en qué grado. Para ello establece como hipótesis nula la ausencia de diferencias significativas entre las medias de la variable sometida a análisis para los distintos tratamientos (combinación de factores) considerados. Es decir, que los factores estudiados no tiene efecto sobre la variable en cuestión. En caso contrario, establece las diferencias estadísticas e identifica qué factor es responsable del grado de varianza de los datos.

### 5.3 LÍNEA 2: Identificación y cartografiado de las zonas óptimas para el cultivo.

En esta línea de trabajo se propone la identificación de zonas óptimas para el cultivo de mejillón, atendiendo a factores ambientales, como temperatura, niveles de producción primaria y batimetría, basándose en datos de imágenes satélite y cartografía náutica.

#### 5.3.1 Recopilación e interpretación de la información.

Para la realización de esta tarea se ha seguido una doble estrategia. Por un lado se ha realizado una intensa revisión bibliográfica de aquellos factores ambientales con influencia sobre el cultivo del mejillón y por otro, se han consultado las posibles fuentes de información espacial representativas de estas variables, las características técnicas de los datos y los posibles programas usados para su tratamiento.

Además, se ha prestado especial atención a aquellos trabajos sobre acoplamiento físico y biológico a lo largo del litoral andaluz, con la intención de relacionar los patrones de distribución del fitoplancton con las condiciones hidrodinámicas, temperatura, salinidad, turbidez, etc., y poder identificar así zonas con condiciones óptimas para el cultivo de mejillón.

A este respecto resulta especialmente interesante el trabajo realizado por la Consejería de Agricultura y Pesca sobre las zonas de interés para el desarrollo de la acuicultura en el litoral andaluz (Macías et al., 2005). En dicho trabajo se recoge un análisis cartográfico, mediante sistemas de información geográfica, de los usos y condiciones ambientales existentes en el litoral andaluz, tales como datos climatológicos, fondos marinos, calidad del agua y condiciones oceanográficas.

Este estudio supone una importante herramienta para la determinación de las zonas óptimas para el cultivo del mejillón, ya que propone el análisis de factores ambientales, como temperatura, niveles de producción primaria, Y batimetría.

### 5.3.2 Elaboración de cartografía.

Tras recopilar las numerosas variables relacionadas con el desarrollo de los cultivos marinos en general, se seleccionaron aquellas de mayor interés para el cultivo del mejillón.

- *Profundidad*: este factor influye en el cultivo en aspectos como la corriente, colonización de parásitos y flujo de alimento.
- *Temperatura superficial del agua*: la temperatura tiene una gran influencia en las condiciones del cultivo, así como en aspectos reproductivos.
- *Concentración de Clorofila A*: como estimador de la biomasa fitoplanctónica nos informa acerca de la disponibilidad de alimento.

Posteriormente, y considerando la idoneidad de estos parámetros ambientales seleccionados, se ha desarrollado un análisis completo de la costa andaluza sin considerar las limitaciones de uso de la costa. Para ello se inició una búsqueda de información histórica y reciente que abarcara toda la costa y que fuera actualizable y su proceso automatizable con bajo costo y esfuerzo.

Finalmente, se decidió utilizar imágenes procedentes de satélite generadas por el CREPAD (Centro de Recepción, Proceso, Archivo y Distribución de imágenes de Observación de la Tierra), creado en 1997 y financiado por el INTA, el Gobierno de Canarias y la CICYT (Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología), e inscrito desde el año 2000 en el Departamento de Observación de la Tierra, Teledetección y Atmósfera del INTA.

Tras facilitarnos una serie temporal de la costa andaluza, desde 1997 hasta enero 2010, se han generado medias mensuales de temperatura superficial y de clorofila, disponiendo así de los valores representativos en cada mes a lo largo de esta serie temporal de imágenes. Estos resultados obtenidos han sido integrados en un sistema de información geográfica para su representación cartográfica. Para ello se ha empleado el software Arc Gis 9.2 y Envi (ESRI Inc.).

Para su representación, cada una de las variables estudiadas se han clasificado en categorías valoradas según su efecto sobre el desarrollo de la acuicultura. Asimismo a cada variable se le ha asignado un factor de ponderación según su importancia para el desarrollo de los cultivos marinos.

Posteriormente se ha realizado un análisis de gradientes mediante la combinación e integración de los mapas correspondientes a cada variable. De esta manera es posible cuantificar el interés de la zona para el cultivo del mejillón según dos categorías:

- *Zonas de interés medio*: presentan las mínimas condiciones ambientales favorables para el desarrollo de la acuicultura.
- *Zonas de interés alto*: sus condiciones ambientales son las óptimas para el desarrollo de la acuicultura.

A este respecto, se ha tenido en cuenta el caso específico del cultivo de mejillón para la determinación de los rangos óptimos y desfavorables de las variables estudiadas. En concreto se han aplicado valores específicos para la profundidad, la temperatura y la clorofila.

➤ Temperatura:

El valor óptimo para el desarrollo del mejillón se sitúa entre los 10-20°C. Por encima de dicho rango procesos metabólicos como el crecimiento del mejillón se ralentizan (Cracium, 1980), hasta provocar la mortandad de los individuos a los 28°C (Ramón et al., 2007). Temperaturas menores de 12-13°C son poco habituales en las aguas superficiales de nuestras costas. Por todo ello, se ha utilizado la relación descrita en la tabla 5.3:

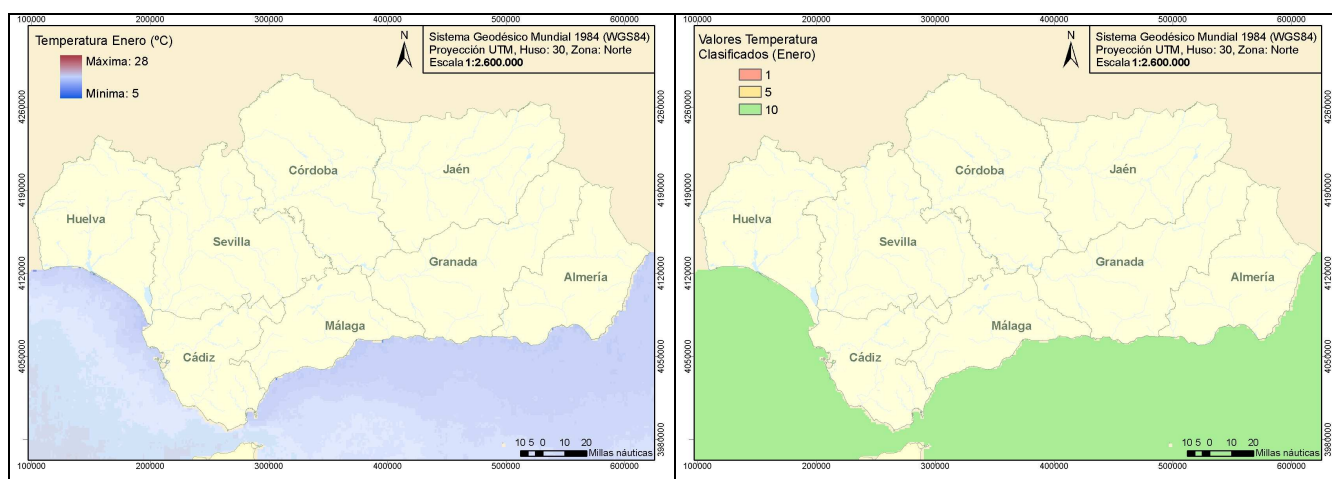
**Tabla 5.3** Clasificación de valores de temperatura según su idoneidad para cultivo de mejillón

Rango	Valor
T < 10°C	1
10°C < T < 20°C	10
20°C < T < 25°C	5
25°C < T < 28°C	1
T > 28°C	0

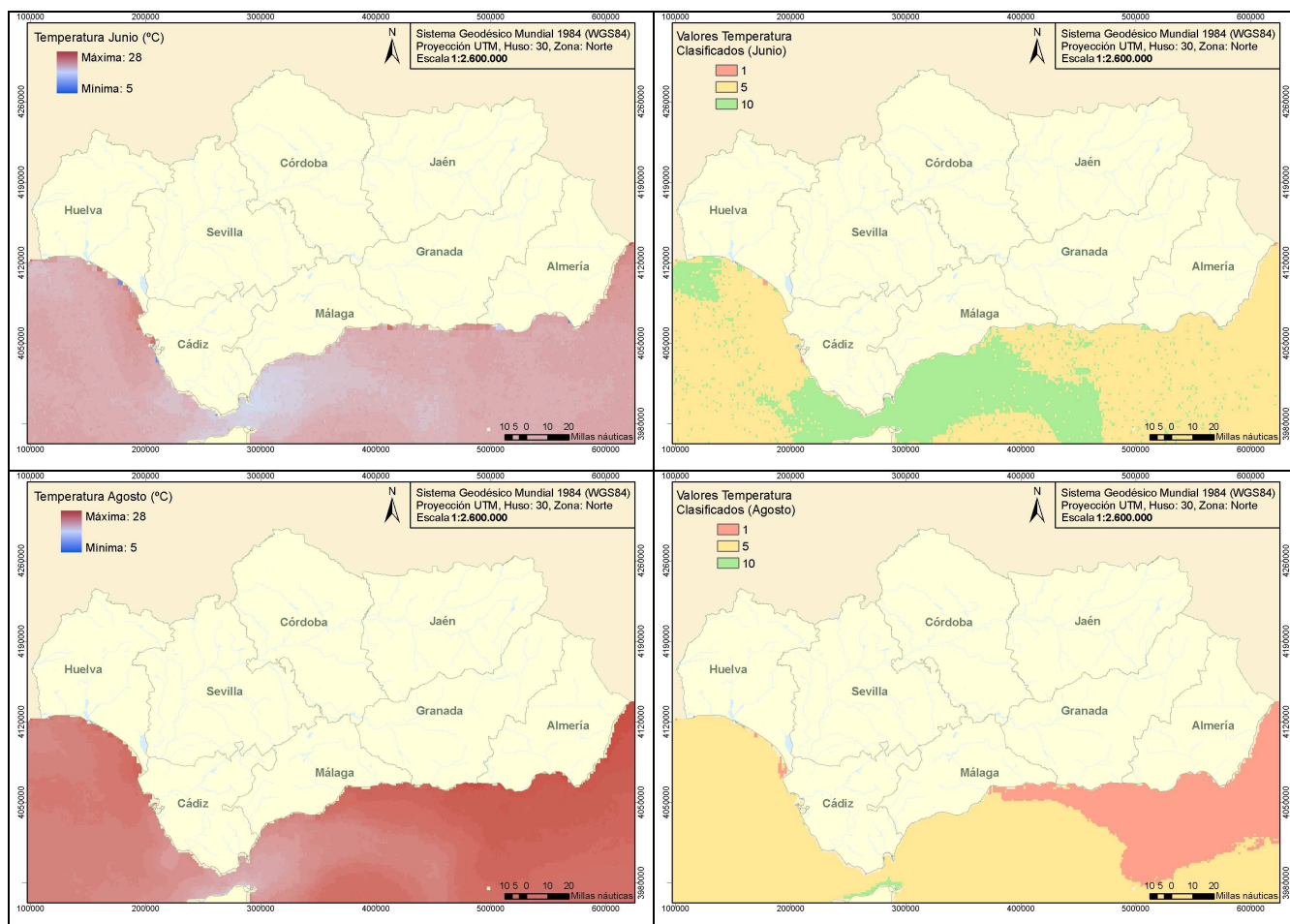
La temperatura, se trata de una variable muy condicionada por la estación del año, de tal forma que cumple patrones similares en cada mes a lo largo de la serie. Por este motivo se ha optado por analizar las imágenes prototipo de cada uno de los 12 meses utilizando imágenes desde enero de 1998 hasta enero de 2010. Éstas se han obtenido realizando la media de todas las imágenes de la serie pertenecientes a un mismo mes.

Posteriormente se ha realizado la clasificación de las 12 imágenes prototipo siguiendo los rangos vistos anteriormente y finalmente se ha realizado una media de estas 12 imágenes ya clasificadas.

En la figura 5.2 se aprecian los valores prototipo de en los meses de enero, junio y agosto, así como sus valores ya clasificados:



**Figura 5.2a** Imágenes representativas de la temperatura superficial prototipo observada en los meses de enero, junio y agosto e imágenes clasificadas. **Fuente:** E.P. DAP

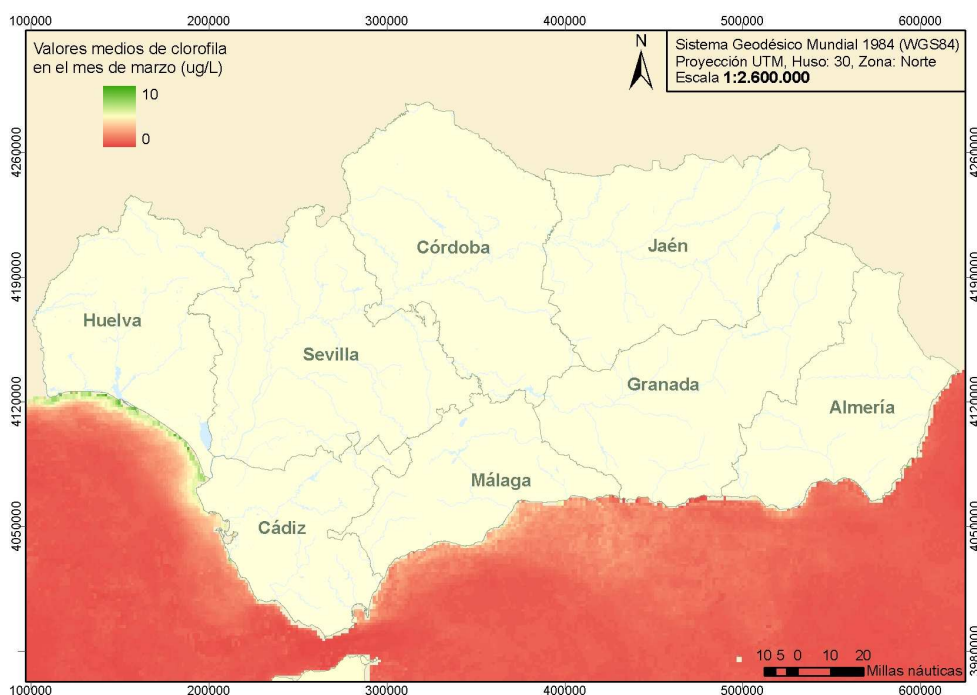


**Figura 5.2b** Imágenes representativas de la temperatura superficial prototipo observada en los meses de enero, junio y agosto e imágenes clasificadas. Fuente: E.P. DAP

➤ Clorofila:

Al contrario que en el cultivo de peces, el incremento de las concentraciones de clorofila no suponen un efecto negativo para el desarrollo del mejillón, más bien el contrario, siempre que no superen concentraciones mayores de 15  $\mu\text{g/L}$ , que suelen ser indicativas de la presencia de fitoplancton tóxico. Dicha circunstancia supone el cierre temporal de la instalación para la venta de la producción.

En las imágenes utilizadas no aparecen valores que superen lo 10  $\mu\text{g/L}$  (figura 5.3), alcanzando el valor máximo (9,9 $\mu\text{g/L}$ ) en la costa de Huelva. Esto puede deberse a que las imágenes utilizadas promedian los valores de cada píxel, que tiene aproximadamente una milla náutica de lado y asimismo representan los valores medios de cada mes, por lo que los valores máximos puntuales se atenúan.



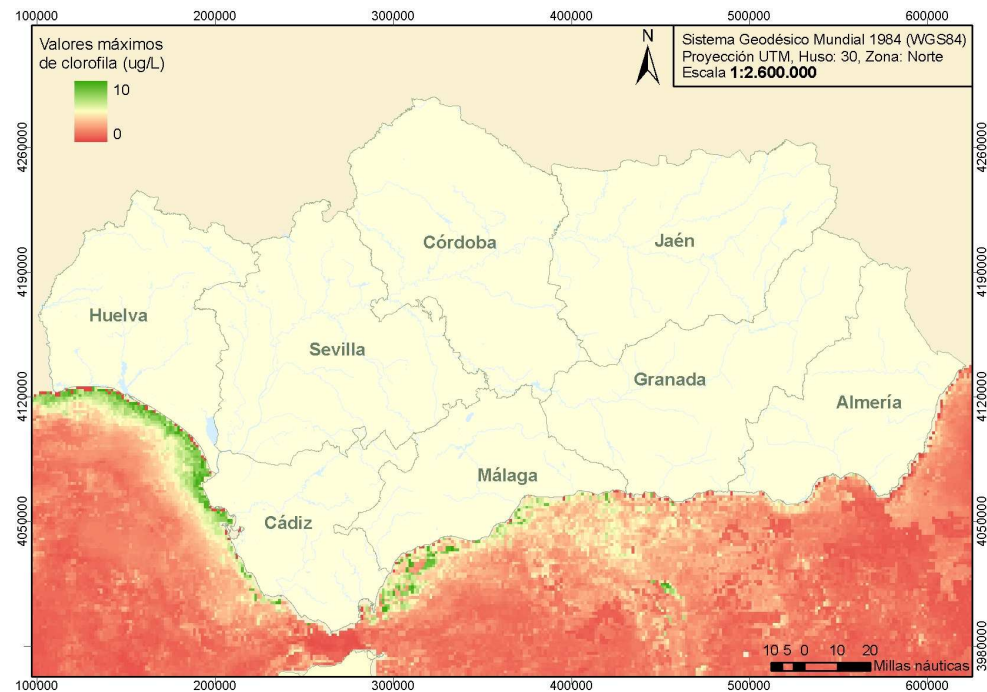
**Figura 5.3** Valores máximos de clorofila observados desde enero de 2005 hasta enero de 2010. Fuente: E.P. DAP

Asimismo, las imágenes están cortadas por una máscara o contorno que elimina los valores mas cercanos a costa debido a criterios técnicos relacionados con la profundidad y con el fin de incluir una diferenciación entre zonas más ricas y pobres. Por ello se han utilizado lo rangos valorados en la tabla 5.4:

**Tabla 5.4** Clasificación de valores de Clorofila A según su idoneidad para cultivo de mejillón

Rango	Valor
C < 0,5µg/l	0
0,5µg/l - 1,5µg/l	1
1,5µg/l - 3,5µg/l	3
3,5µg/l - 5µg/l	5
5µg/l - 10µg/l	10

Al analizar la serie completa de imágenes de clorofila (2005-2010) se observó que los valores máximos se registran en el mes de marzo, por ello se decidió abordar este estudio mediante una imagen de clorofila prototipo de marzo (figura 5.4). Posteriormente esta imagen será clasificada según los rangos vistos anteriormente.



**Figura 5.4** Valores de clorofila prototipo de marzo. Imagen obtenida a partir de la media de las 5 imágenes de marzo (2005, 2006, 2007, 2008 y 2009). **Fuente:** E.P. DAP

➤ Profundidad:

Se ha utilizado una capa vectorial de tipo poligonal perteneciente al Mapa Topográfico de Andalucía (MTA), que dispone de información de las curvas batimétricas con una distancia entre ellas de 10 metros.

Antes de rasterizar la capa, se ha realizado la reproyección de la vectorial, del datum Europeo 1950 (ED50) al datum mundial o global 1984 (WGS84), sistema de referencia en el que se van a dar los resultados y proyectados en UTM, en el huso 30 y zona norte.

Una vez reproyectada, se ha pasterizado, estudiando el tamaño de píxel elegido para la imagen raster de salida, para evitar pérdidas en la precisión de los datos representados y considerando la resolución espacial de los datos originales.

Concretamente, cuando se representan alturas como es el caso de la capa de batimetría, el tamaño de píxel adecuado va a variar en función del relieve de la zona. Así en esta capa con curvas representadas cada 10 metros, para las zonas más llanas podría ser suficiente con píxeles de 100 metros y en el caso de las zonas abruptas se podría llegar incluso a los 10 metros. Por tanto, en este caso se optó por elegir un tamaño de píxel medio en toda la imagen de 50 metros de lado. Tamaño suficiente según la precisión de los datos de partida y del objetivo del trabajo (figura 5.5).

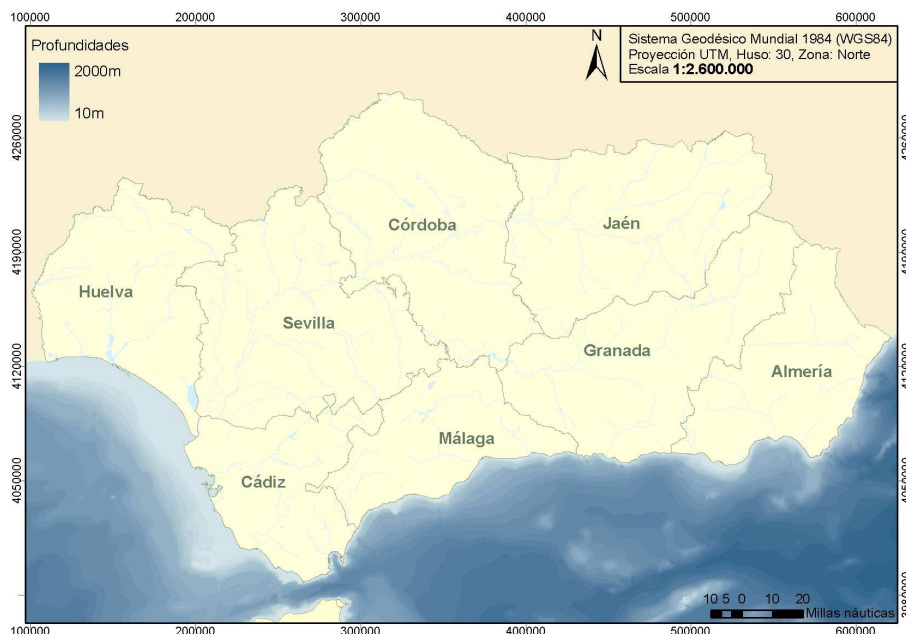


Figura 5.5 Imagen raster de batimetría. Fuente: E.P. DAP

Una vez que se disponen de las 3 imágenes clasificadas representativa de cada variable, se realiza el análisis final teniendo en cuenta el factor de ponderación de cada una de ellas: 40% para la clorofila y temperatura y 20% para la batimetría (tabla 5.5)

Tabla 5.5 Características de los parámetros considerados para la valoración del interés de las diferentes zonas estudiadas para el desarrollo de la acuicultura.

Parámetro	Grado de interés			Factor de ponderación
	Rangos	Valor		
		Atlántico	Mediterráneo	
Profundidad (ponderada por distancia)	< 20 m	0		0,2
	de 20 a 30 m	5		
	30 m < P < 40 m	10		
	40 m < P < 50 m	5	10	
	50 m < P < 70 m	1	5	
	70 m < P < 100 m	0	1	
	> 100 m	0	0	
Temperatura media	T <sup>a</sup> <sub>med</sub> ≤ 10 °C	1		0,4
	10°C < T < 20°C	10		
	20°C < T < 25°C	5		
	25°C < T < 28°C	1		
	T <sup>a</sup> <sub>med</sub> ≥ 28 °C	0		
Clorofila a	C < 0,5µg/l	0		0,4
	0,5µg/l < C < 1,5µg/l	1		
	1,5µg/l < C < 3,5µg/l	3		
	3,5µg/l < C < 5µg/l	5		
	5µg/l < C < 10µg/l	10		



#### 5.4 LÍNEA 3: Determinación de formas de obtención de semilla.

La disponibilidad de semilla de calidad en cantidades suficientes es un factor fundamental para el óptimo desarrollo de las fases iniciales del cultivo, y por tanto determinante para la rentabilidad del mismo. Por ello, esta línea de trabajo se centra en el estudio de la evolución temporal en la fijación de la semilla así como en la evaluación de diferentes sistemas de captación en cultivo.

##### 5.4.1 Diseño de la experiencia y campañas de muestreo.

El estudio de la fijación de semilla pretende dos objetivos básicos, evaluar los patrones espaciales y temporales de fijación de semilla, así como la eficiencia en la captación de diferentes estructuras. Para la consecución de estos objetivos se ha procedido al fondeo en las instalaciones de cultivos de varios sistemas de captación de semilla que han sido muestreados mensualmente entre junio de 2007 y julio de 2009, con un total de 66 muestreos (Tabla 5.6).

**Tabla 5.6** Fechas muestreos fijación semilla de mejillón

Muestreo	Caleta de Vélez	Marbella	La Línea de la Concepción
Julio 2007	13/07/2007	19/07/2007	12/07/2007
Agosto 2007	23/08/2007	27/08/2007	
Septiembre 2007	27/09/2007	28/09/2007	03/09/2007
Octubre 2007	23/10/2007	30/10/2007	02/10/2007
Noviembre 2007	27/11/2007	29/11/2007	21/11/2007
Diciembre 2007	12/12/2007	13/12/2007	
Enero 2008	30/01/2008	22/01/2008	31/01/2008
Febrero 2008	26/02/2008	21/02/2008	
Marzo 2008	27/03/2008	25/03/2008	04/03/2008
Abril 2008	23/04/2008	15/04/2008	
Mayo 2008			28/05/2008
Junio 2008	17/06/2008	19/06/2008	30/06/2008
Julio 2008	23/07/2008	15/07/2008	28/07/2008
Agosto 2008			26/08/2008
Septiembre 2008	11/09/2008	02/09/2008	
Octubre 2008	16/10/2008	13/10/2008	06/10/2008
Noviembre 2008	13/11/2008	06/11/2008	14/11/2008
Diciembre 2008	03/12/2008	15/12/2008	17/12/2008
Enero 2009	20/01/2009	08/01/2009	19/01/2009
Febrero 2009	18/02/2009	20/02/2009	10/02/2009
Marzo 2009	23/03/2009	24/03/2009	25/03/2009
Abril 2009	23/04/2009	21/04/2009	27/04/2009
Mayo 2009	28/05/2009	26/05/2009	25/05/2009
Junio 2009	24/06/2009	22/06/2009	22/06/2009
Julio 2009	22/07/2009	21/07/2009	23/07/2009

En el primer año del proyecto (junio 2007-Abril 2008) la evaluación de los patrones espaciales y temporales de fijación se realizó mediante el análisis de colectores propios que cada empresa tiene en las instalaciones de cultivo (Fotografía 5.9) y de bolsas colectoras, similares a la de captación de pectínidos, fondeadas específicamente para este estudio (Fotografía 5.10). Si bien esta estrategia se mostró adecuada para identificar la época de

fijación de semilla (ver resultados año 2007), se optó por modificarla ya que presentaba ciertos inconvenientes.

La comparación de ambos métodos ponía de manifiesto la escasa funcionalidad de las bolsas colectoras para retirar la semilla fijada, así como una elevada dificultad para su análisis en el laboratorio, ya que las bolsas suponían el refugio para multitud de organismos que se mezclaban con la semilla, dificultando su identificación.



**Fotografía 5.9** Muestra de cuerda colectora utilizada para la captación de semilla. **Fuente:** E.P. DAP



**Fotografía 5.10** Líneas de bolsas colectoras antes (izquierda) y una vez fondeadas en la instalación (derecha). **Fuente:** E.P. DAP

Por ello, en la segunda parte del proyecto (a partir de mayo de 2008) se llevó a cabo un cambio en la metodología seguida por el estudio de la fijación de semilla. Se seleccionó una estrategia diferente que permitía además hacer el estudio más similar al sistema de captación utilizado en las instalaciones de producción, así como la inclusión de otros factores de variabilidad de la fijación de semilla, como son la profundidad y el tamaño de la semilla fijada.

Así, basándonos en la metodología de Alfaro & Jeffs (2003), se optó por utilizar las cuerdas de producción como colectores de semilla (Fotografía 5.11). Para ello se han colocado trozos de cuerda de 0.5 m a tres profundidades diferentes: 2, 6 y 10 metros (Fotografía 5.12).

Las cuerdas se fondearon mensualmente y se muestrearon cada dos meses. Esta estrategia permite, asumiendo que el desarrollo larval se complete en un mes (Seed, 1976), muestrear las cuerdas en un intervalo de tiempo suficiente para detectar un posible episodio de fijación de semilla y que su tamaño posibilite su cuantificación con la lupa. Estas cuerdas de



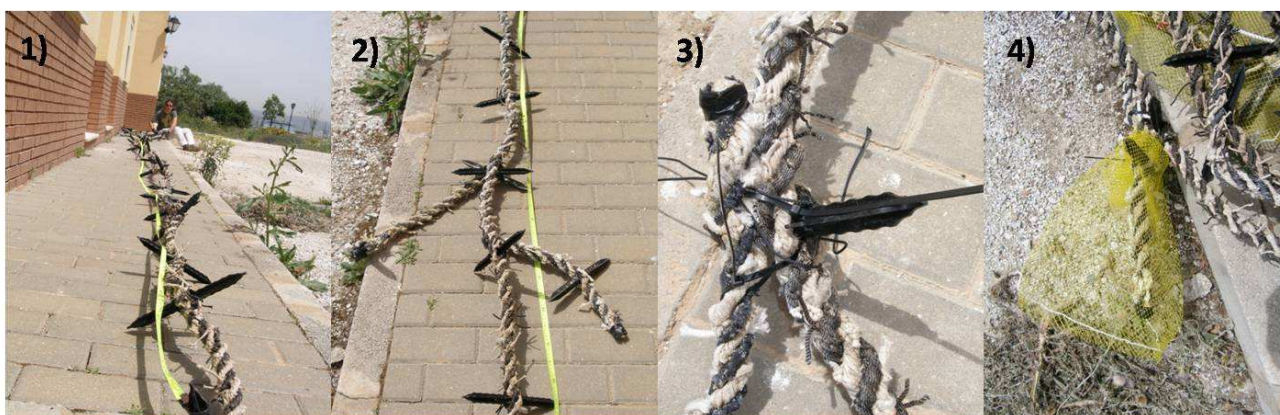
**Fotografía 5.11** Unidad muestral utilizada para la captación de semilla. Fuente: E.P. DAP

muestreo fueron cubiertas con una red para evitar la acción de los depredadores.

#### 5.4.2 Tratamiento de muestras en laboratorio.

Una vez tomadas, las muestras se identificaban y transportaban en frío hasta el laboratorio, donde se congelaban hasta su análisis. El proceso de congelación conserva la semilla y facilita además su separación de la cuerda, facilitando así su limpieza.

Esta se realiza por cepillado del colector o la cuerda sobre una bandeja para evitar posibles pérdidas de individuos, el contenido es posteriormente filtrado a través de un tamiz de 0.5 mm, identificado y conservado en alcohol al 70% (tamponado con borax) hasta su análisis.



**Fotografía 5.12** Montaje cuerdas colectoras. 1) Medición puntos anclaje colectores, 2) y 3) Anclaje de colectores con bridas e hilo, 4) Cubrimiento con red antidepredadores. Fuente: E.P. DAP

Para el análisis de la muestra, ésta se filtra en una columna de tamices de tres tamaños: mayor de 1 mm, entre 1 y 0.5 mm, y menor de 0.5 mm (Fotografía 5.13). Posteriormente se procede a determinar la abundancia de cada una de las clases de talla, mediante conteo con lupa.



Fotografía 5.13 Separación de la semilla de mejillón por tamaños. Fuente: E.P. DAP

#### 5.4.3 Análisis e interpretación de datos.

Una vez conocida la cantidad de semilla fijada en cada muestra los datos fueron almacenados para su posterior análisis. Este se ha centrado en determinar la evolución temporal en la fijación de semilla, así como evaluar posibles diferencias entre zonas de cultivo así como con relación a la profundidad. Finalmente se ha analizado la distribución de la semilla en tres clases de tamaño diferentes. Estos análisis han incluido diversas pruebas estadísticas como el de la varianza.

La aplicación de dicho test nos ha permitido evaluar la influencia o no de los factores estudiados (tiempo, profundidad y localización geográfica) sobre la fijación de semilla, y en su caso el grado de responsabilidad de cada uno de ellos en el patrón de fijación de semilla observado. Para ello se han establecido como hipótesis nulas que la fijación de semilla es igual en el periodo estudiado, así como en todas las profundidades e zonas muestreadas. Los tratamientos analizados han sido:

- meses para el factor tiempo.
- superficie, 6 metros y 12 metros, para el factor profundidad.
- Caleta de Vélez, Marbella y La Línea de la Concepción para el factor localización geográfica.

Como se ha comentado anteriormente, para la realización de dicho test se han utilizado los paquetes informáticos SigmaStat y SPSS.

## 5.5 LÍNEA 4: Biotoxinas nocivas para el cultivo de mejillón.

La ocurrencia de estos episodios determina en gran medida los procesos de producción, extracción y comercialización del mejillón, por lo que se pretende determinar la existencia de patrones temporales de aparición de episodios tóxicos, así como su relación con parámetros ambientales.

### 5.5.1 Recopilación de serie histórica de aparición de episodios tóxicos.

El control sanitario de los moluscos en la Comunidad Autónoma Andaluza es una tarea encomendada a la Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero por parte de la Consejería de Agricultura y Pesca, y realizada por el Laboratorio de Control de Calidad de los Recursos Pesqueros situado en Cartaya (Huelva).

La actividad principal de dicho laboratorio es la realización de controles analíticos que garanticen las óptimas condiciones sanitarias en las zonas de producción de Andalucía. El sistema de vigilancia desarrollado desde este centro contribuye a garantizar la calidad y seguridad alimentaria de los productos destinados al consumo humano, permitiendo la adopción de medidas preventivas (como el cierre de los caladeros) cuando se alcanzan niveles de sustancias tóxicas por encima de los legalmente establecidos. Este sistema se lleva a cabo mediante el análisis periódico de muestras de moluscos procedentes de distintas zonas del litoral andaluz. En función de diversos parámetros de toxicidad se siguen dos estrategias distintas:

- **Muestreos control**, en los que se incluyen muestras de agua para vigilar la evolución del plancton tóxico y acompañante, así como de las condiciones oceanográficas, los nutrientes y la contaminación fecal. También se muestrean moluscos, en los que se controla la posible contaminación por biotoxinas marinas (Paralizantes o PSP, Lipofílicas –denominadas anteriormente como DSP–, y Amnésicas o ASP), química y microbiológica (*E. Coli* y *Salmonella*).
- **Muestreos intensivos**, que se llevan a cabo en aquellas zonas en los que los muestreos control ponen de manifiesto valores de algún parámetro por encima de los admisibles. Estos muestreos, más exhaustivos, permiten un seguimiento de la evolución de los parámetros hasta que vuelvan a niveles tolerables.

Los resultados de los análisis permiten actualizar el estado de las zonas de producción, que pueden ser consultados en la página web de la Consejería de Agricultura y Pesca ([www.cap.junta-andalucía.es/agriculturaypesca/molulIndex.jsp](http://www.cap.junta-andalucía.es/agriculturaypesca/molulIndex.jsp)).

La realización periódica de controles sanitarios de moluscos y medidas de niveles fitoplanctónicos supone por tanto un importante registro histórico de la ocurrencia e intensidad de episodios de biotoxinas en las instalaciones de cultivo de mejillón. Así, este registro resulta esencial para la consecución de los objetivos marcados en esta línea de trabajo, por lo que el desarrollo de la misma se ha basado en la obtención y análisis de dicha serie de datos. Para ello se ha incidido en la identificación de patrones temporales de ocurrencia y su relación con las variables ambientales.

### 5.5.2 Análisis e interpretación de la información

El desarrollo de esta tarea ha comprendido el análisis estadístico de las series de datos relativos a concentración de fitoplancton y niveles de toxinas, con la intención de identificar posibles patrones de variabilidad temporal y espacial de estos episodios tóxicos, así como tratar

de relacionar su ocurrencia e intensidad con las diversas variables ambientales analizadas en el proyecto.

Finalmente se ha evaluado la incidencia de los episodios tóxicos sobre el cultivo de mejillón mediante el análisis de los días de cierre o veda de las zonas de producción estudiadas. Para ello se ha tenido en cuenta que el cierre de una zona de cultivo varía según la sustancia tóxica responsable del mismo:

- **Microbiológico:** los cierres por *E. Coli* se producen al segundo valor consecutivo por encima del límite legal, y la apertura a partir del momento en que se sitúan por debajo. En el caso de la *Salmonella*, se cierra al primer positivo y se abre al segundo negativo consecutivo.

- **Biotoxinas y coliformes fecales:** funcionan igual que en el caso de la *Salmonella*.

Al igual que en las líneas anteriores, los datos y resultados obtenidos han sido almacenados en la base de datos del Laboratorio de Recursos Pesqueros y Acuícolas.

## 5.6 LÍNEA 5: Evaluación de la compatibilidad de cultivo de mejillón con otras actividades de cultivo en mar abierto.

Esta línea de investigación está muy relacionada con otro proyecto JACUMAR realizado por la Empresa Pública Desarrollo Agrario y Pesquero titulado “Acuicultura Integrada: Experiencia piloto para el desarrollo de sistemas de cultivos multitroóficos”. En ella se pretende estudiar la relación del cultivo de mejillón con otras actividades acuícolas, y analizar su compatibilidad con éstas, identificando los posibles efectos sobre otros sistemas de cultivo (especialmente de peces), así como la posible complementariedad de ambas.

El desarrollo de esta línea de trabajo se ha basado en el diseño de un cuestionario destinado a conocer la relación de las empresas del sector acuícola con el mejillón, las posibles problemáticas causadas por este, así como su gestión. Concretamente se ha solicitado información en relación a la identificación y valoración del problema, análisis del entorno, contramedidas y posibilidad de alternativas de negocio (complementariedad de producciones)

Este cuestionario se ha enviado a todas las empresas con cultivos de jaulas en mar abierto distribuidas en el litoral andaluz. Una de ellas en la zona atlántica y el resto en el Mediterráneo.

Se trata de un análisis cualitativo, no cuantitativo en el que se pretende obtener una visión global y un acercamiento real de la interacción entre cultivos.

Posteriormente, se han evaluado las técnicas de aprovechamiento de estos recursos mediante un análisis de los resultados de las encuestas y en base a la percepción del sector de las interacciones, medidas de paliamiento y posible aprovechamiento del recurso.

## 5.8 CRONOGRAMA DE TRABAJO

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.												
	AÑO 1(2007)				AÑO 2				AÑO 3			
<b>ACTIVIDADES</b>												
<b>FASE 1</b>												
1.1 Planificación de las actuaciones												
<b>FASE 2.</b>												
2.1 Seguimiento de cultivos seleccionados												
2.2 Interpretación de datos y cartografiado												
2.3 Determinación de la cantidad y calidad de semilla												
2.4 Seguimiento de la aparición de episodios tóxicos												
2.5.Evaluación de la compatibilidad entre sistemas de cultivo												
<b>FASE 3.</b>												
3.1 Interpretación y evaluación												
3.2 Elaboración de propuestas												
3.3 Difusión de resultados												





## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---



## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Monitorización ambiental

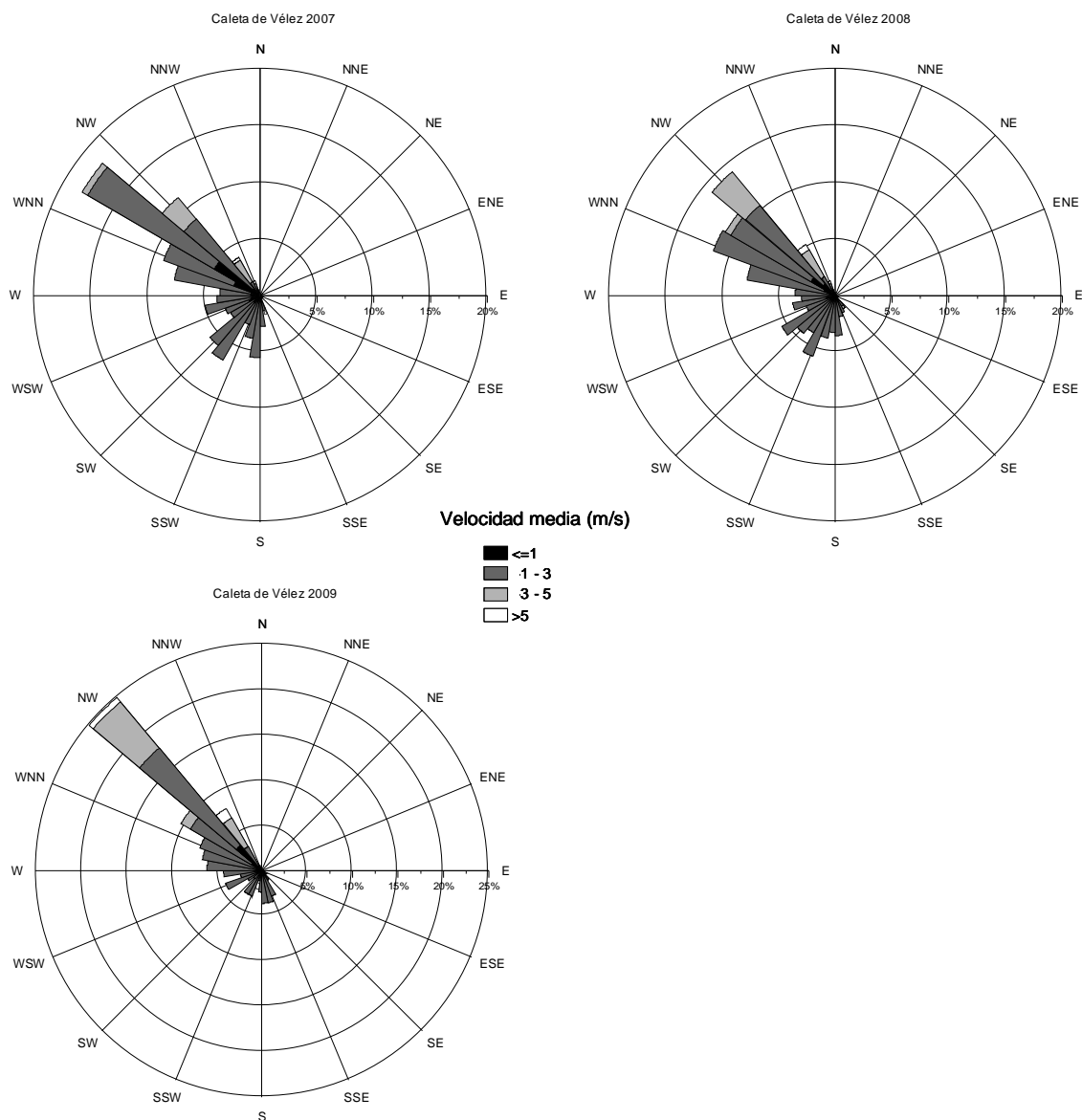
#### 6.1.1 Régimen de vientos

Las Figuras 6.1-6.6 recogen la distribución de frecuencias de dirección y velocidad de los vientos en cada una de las tres instalaciones de cultivo durante el periodo de estudio. Las figuras anuales ponen de manifiesto diferentes regímenes de viento en cada una de las zonas de estudio. En Caleta de Vélez (Figura 6.1) se observa un predominio de vientos flojos a moderados con dirección predominante de vientos del NW y flojos del SW. En cambio en La Línea de la Concepción y Marbella, donde la intensidad de los vientos es mayor, el régimen de vientos se corresponde con un claro predominio de vientos de levante y poniente (Figuras 6.2 y 6.3).

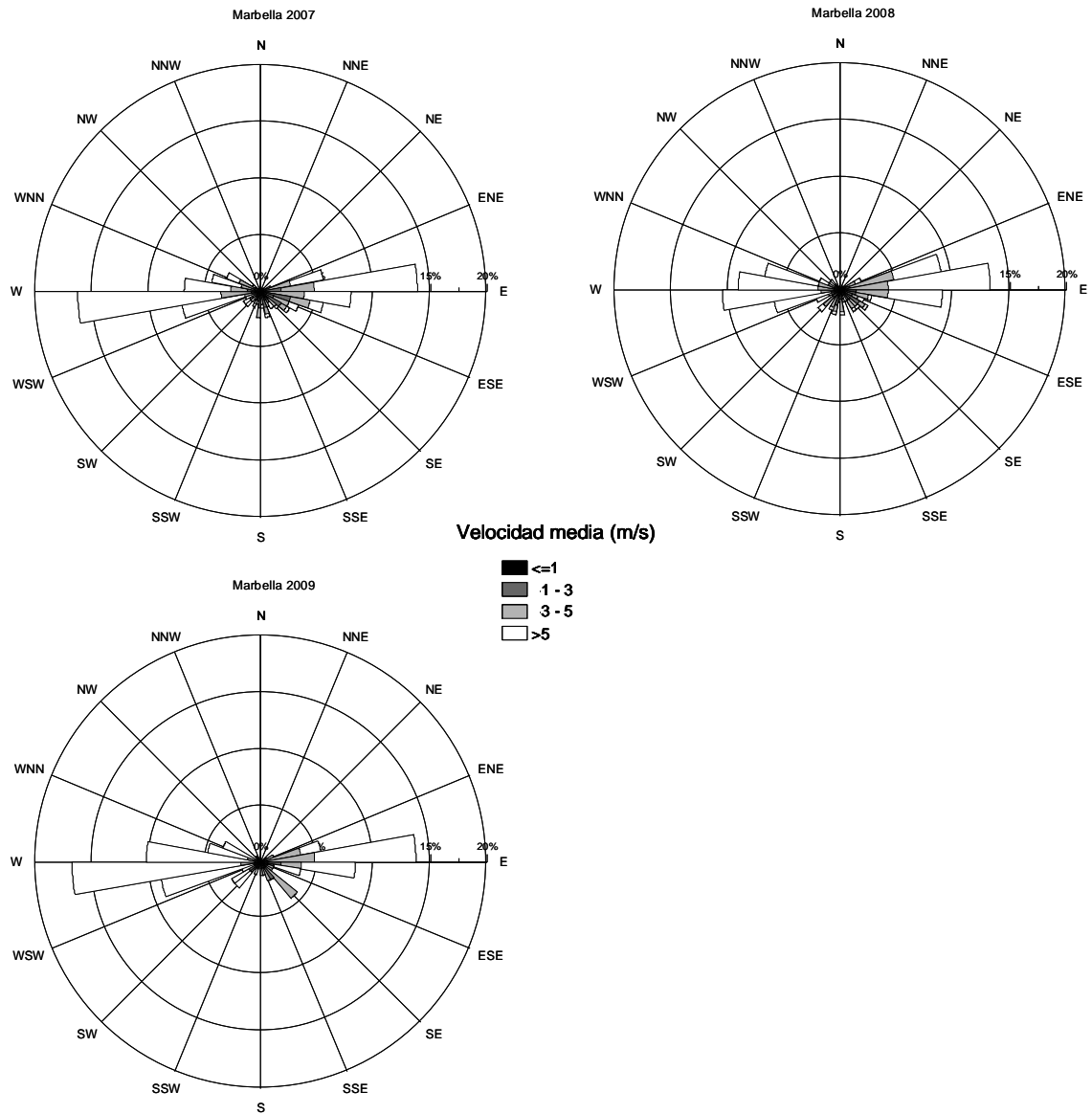
Un análisis más detallado muestra claras diferencias estacionales en los patrones de viento registrados en cada una de las instalaciones (Figuras 6.4, 6.55 y 6.6). En Caleta de Vélez los vientos muestran una clara componente NW en los meses de invierno y primavera. Es en esta época, especialmente en los meses de diciembre y marzo, durante temporales de vientos de poniente, cuando se registran las velocidades más elevadas, alcanzando valores de hasta  $6.2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (diciembre de 2008). Durante los meses de mayo y junio se produce un cambio en la dirección predominante, que pasa a ser S-SW en verano. Posteriormente, durante el otoño el régimen de vientos muestra una transición hacia la componente NW predominante en los meses de invierno y primavera (Figura 6.4).

En Marbella el patrón estacional es menos claro. En 2007 (Figura.6.5) se observó una mayor incidencia de los vientos de poniente en los meses de primavera y verano, mientras que en los meses de otoño e invierno el patrón predominante fue de vientos del E. En 2008 el régimen de vientos mostró una mayor variabilidad con una alternancia mensual en la dirección predominante del viento, sin que se observe un patrón claro. Por su parte, en la primera mitad de 2009 se observa un patrón claramente distinto al observado en los años anteriores, caracterizado por una predominancia de los vientos de componente W, que fueron tomando componente norte conforme avanzaba la primavera. En los meses de mayo y junio los vientos predominantes fueron del N y NE. En cualquier caso, el régimen de vientos observado en Marbella se ha caracterizado por vientos moderados en todos los años de estudio, especialmente en 2009, cuando se registraron las mayores velocidades (en torno a  $15 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  en febrero).

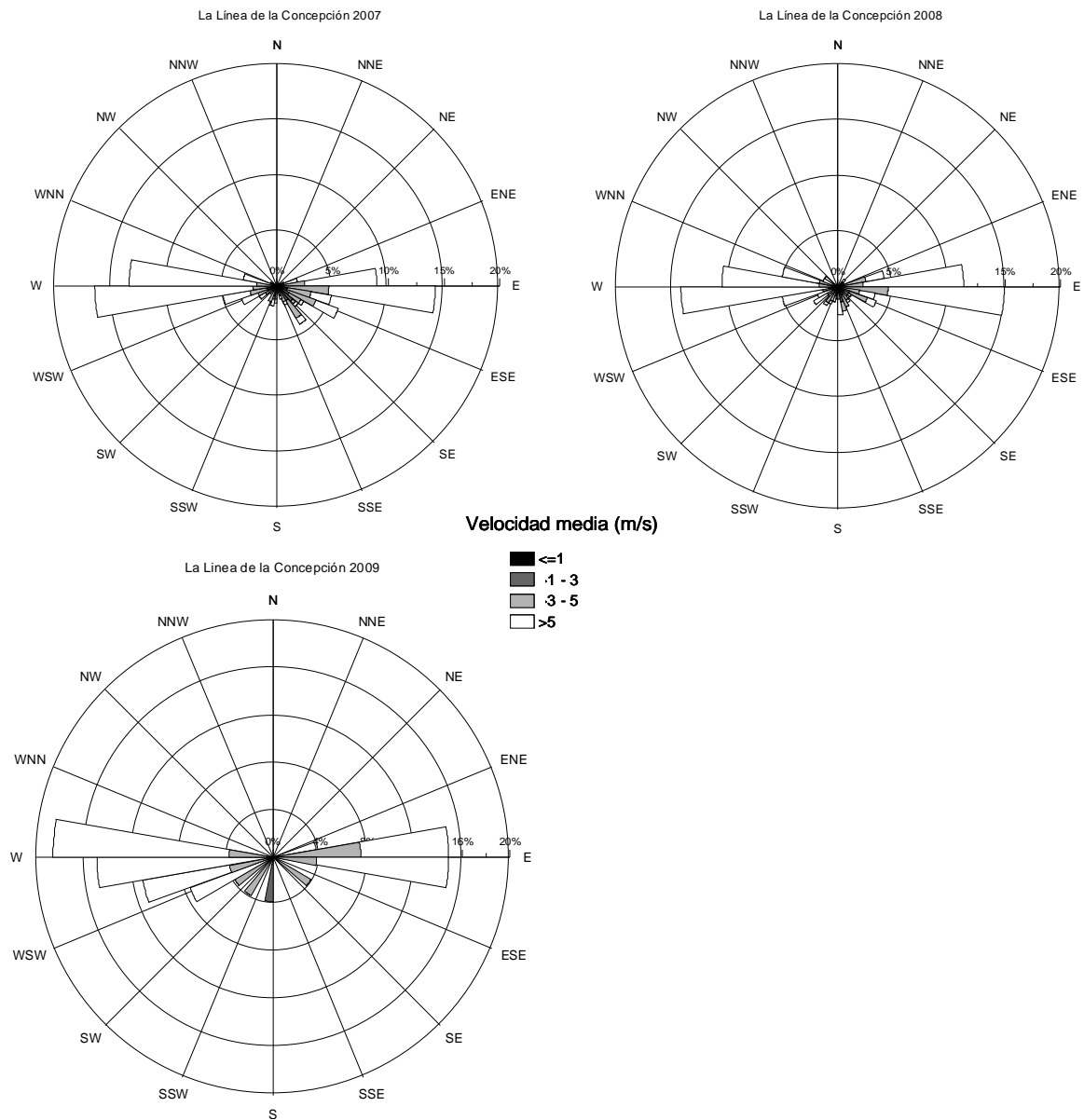
El régimen de vientos observado en La Línea de la Concepción (Figura 6.6) es muy similar al descrito anteriormente para la instalación de Marbella, con una predominancia muy clara de los vientos de poniente y levante. Al igual que en la instalación anterior, las intensidades registradas son claramente mayores a las observadas en Caleta de Vélez, y se dan principalmente en los meses de invierno. En este caso, tampoco se observa un patrón estacional claro, con una alternancia casi mensual en la dirección predominante del viento. Asimismo, el régimen de vientos observado presenta diferencias entre los años estudiados, especialmente en la primera mitad de 2008 y 2009 cuando fue casi opuesto. En cualquier caso, a diferencia de Marbella, en La Línea de la Concepción los vientos de componente Norte fueron poco significativos.



**Figura 6.1** Frecuencias de dirección y velocidad del viento en la instalación de Caleta de Vélez a lo largo del 2007 (mayo-diciembre), 2008 y 2009 (enero-junio). **Fuente:** Estación Agroclimática de Vélez-Málaga (Junta de Andalucía).



**Figura 6.2** Frecuencias de dirección y velocidad del viento en la instalación de Marbella a lo largo del 2007 (mayo-diciembre), 2008 y 2009 (enero-junio). **Fuente:** Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.



**Figura 6.3** Frecuencias de dirección y velocidad del viento en la instalación de La Línea de la Concepción a lo largo del 2007 (mayo-diciembre), 2008 y 2009 (enero-junio). **Fuente:** Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

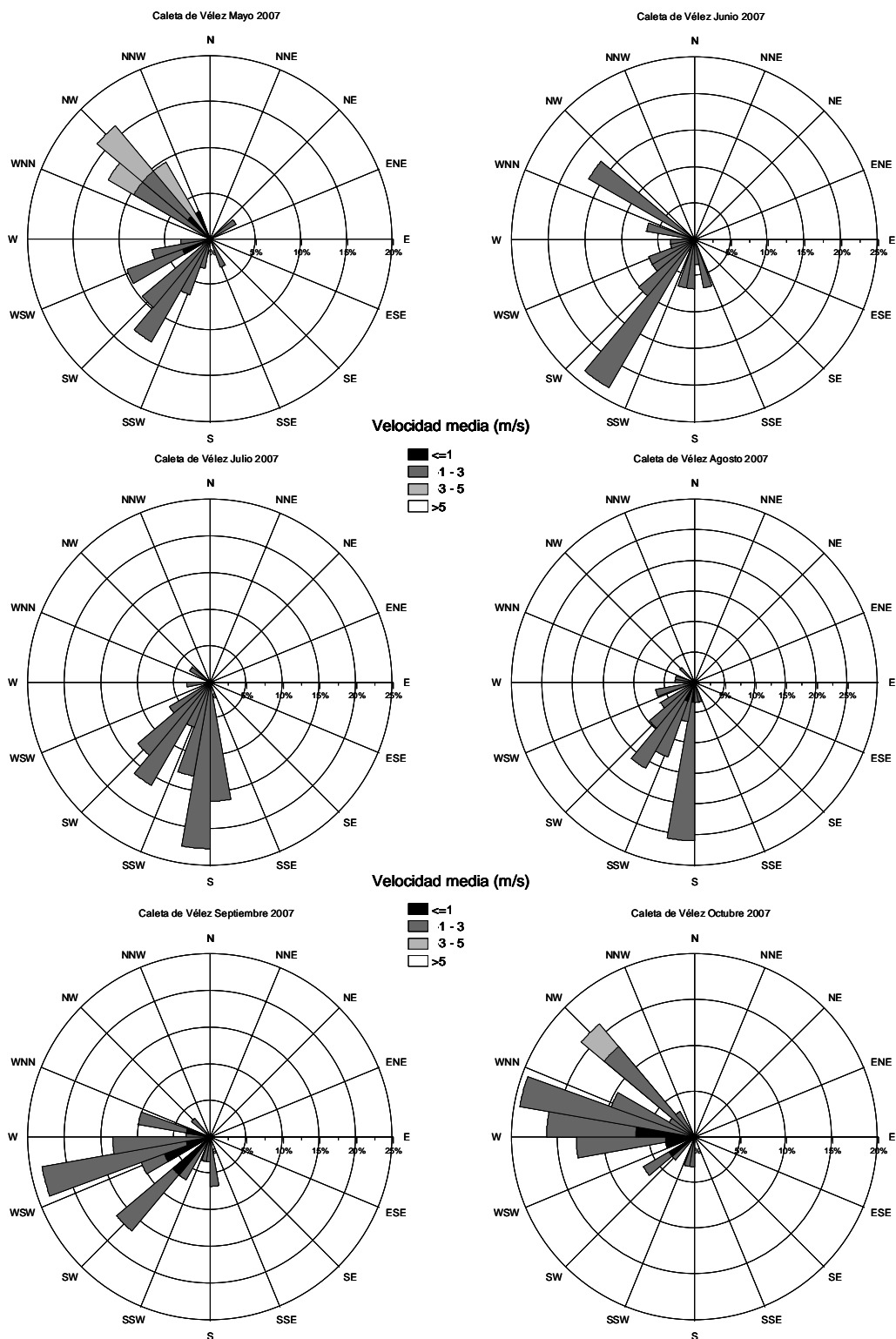
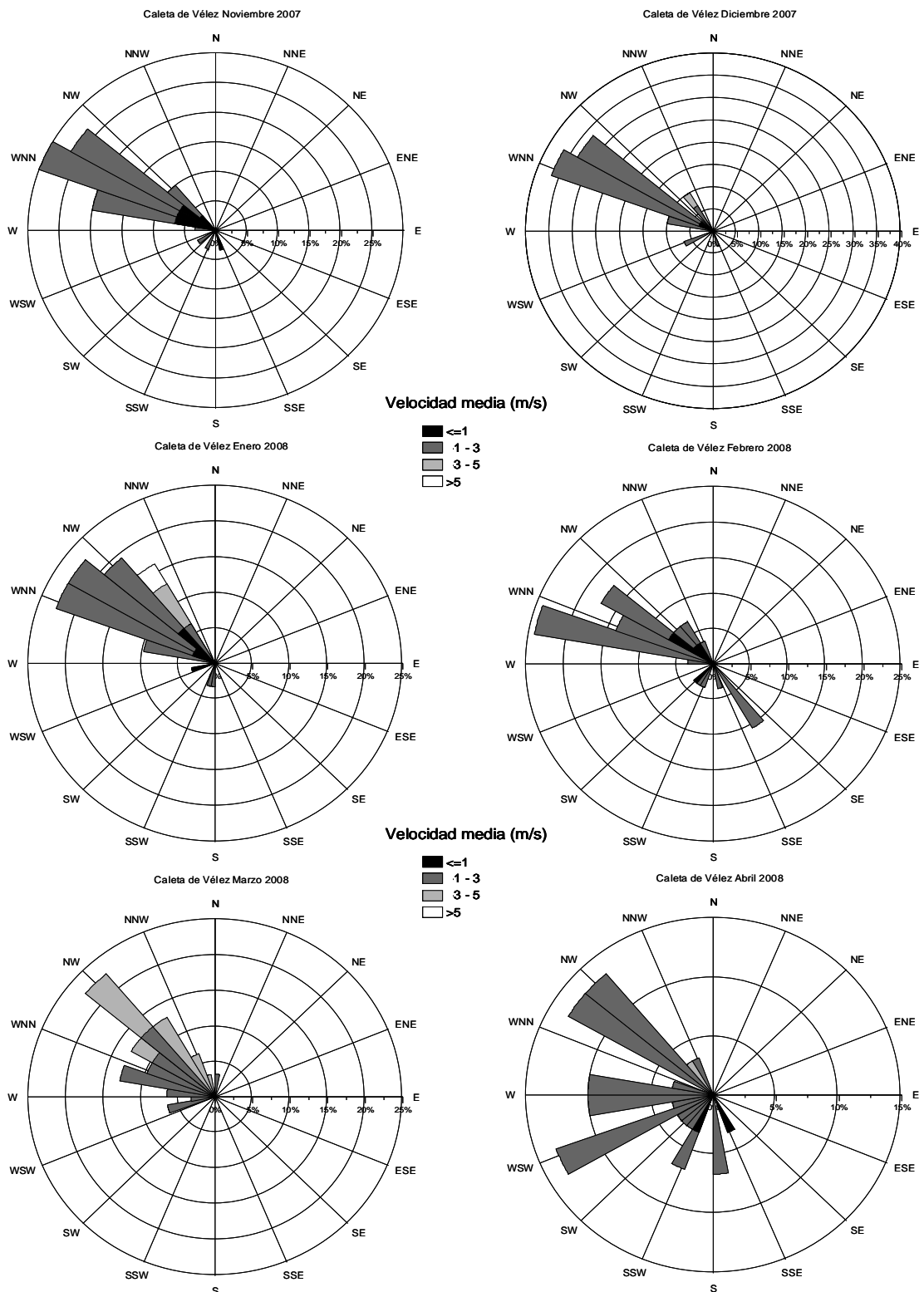


Figura 6.4a Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Caleta de Vélez. Fuente: Estación Agroclimática de Vélez-Málaga (Junta de Andalucía).



**Figura 6.4b** Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Caleta de Vélez.  
**Fuente:** Estación Agroclimática de Vélez-Málaga (Junta de Andalucía).



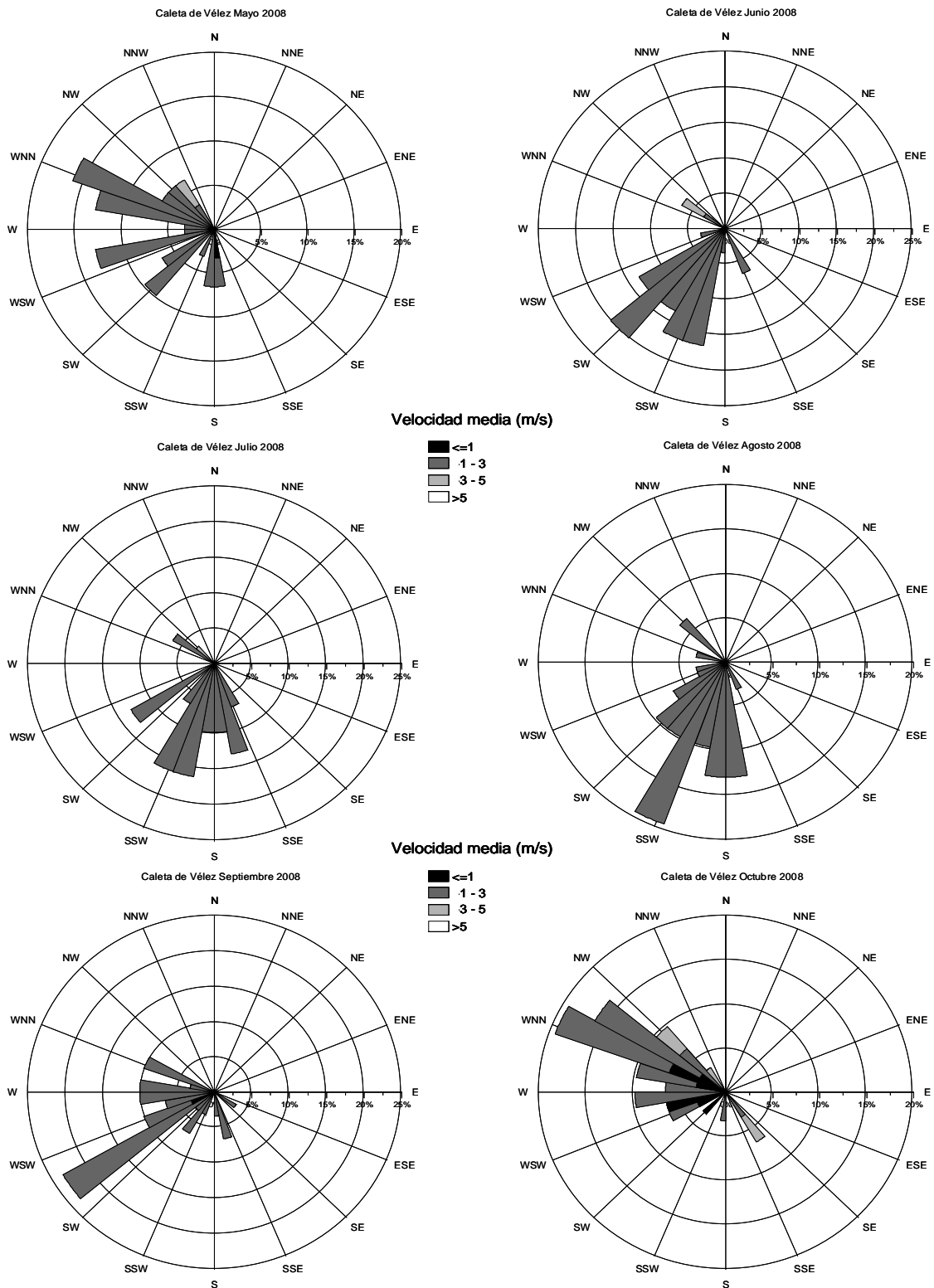


Figura 6.4c Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Caleta de Vélez. Fuente: Estación Agroclimática de Vélez-Málaga (Junta de Andalucía).

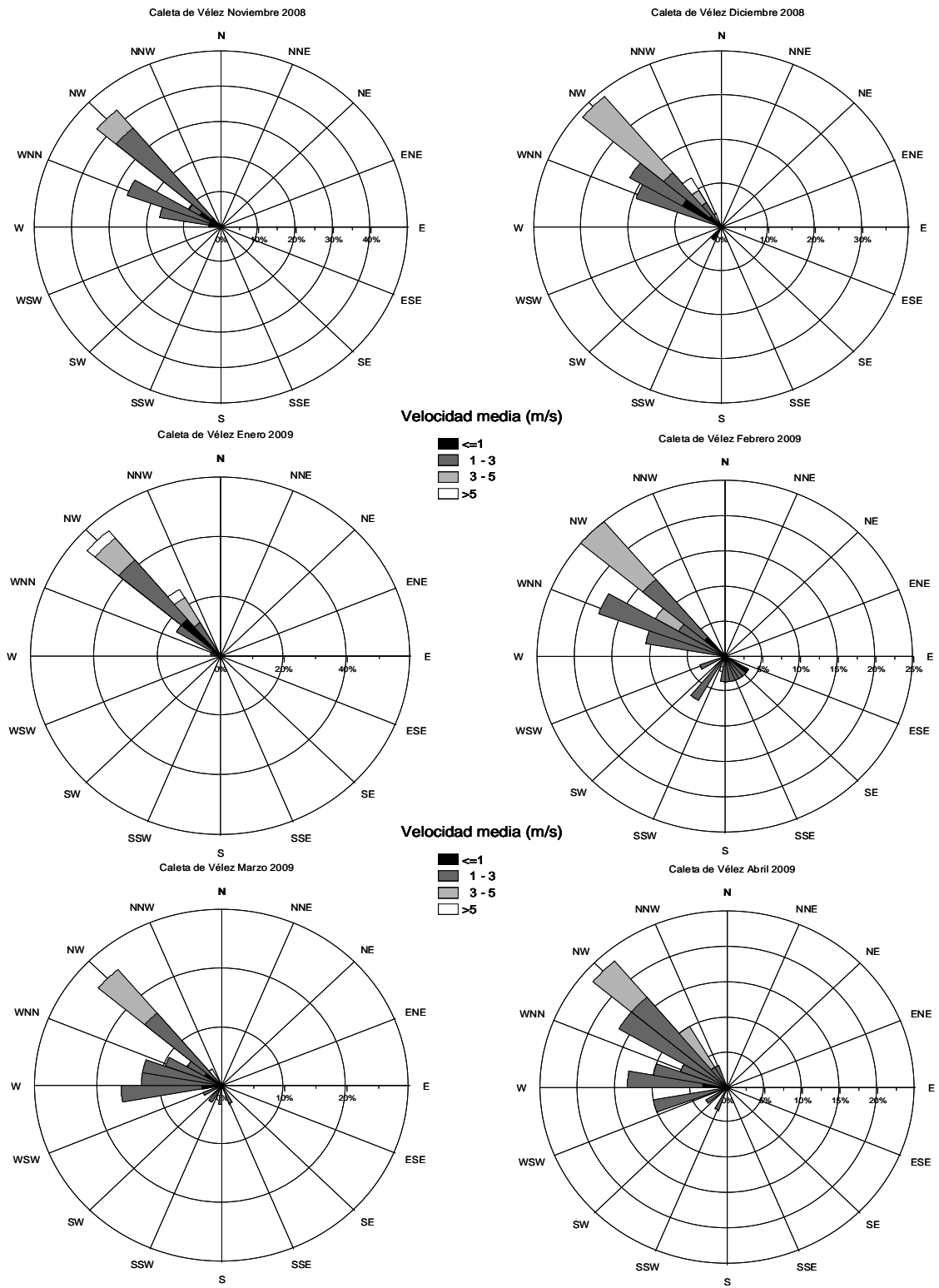


Figura 6.4d Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Caleta de Vélez. Fuente: Estación Agroclimática de Vélez-Málaga (Junta de Andalucía).

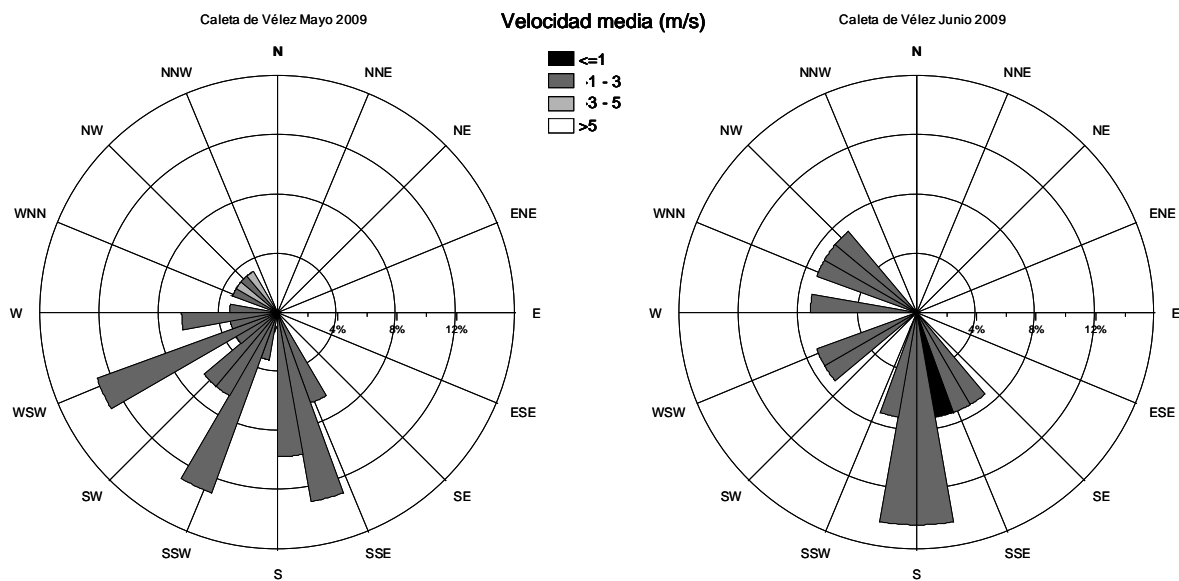


Figura 6.4e Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Caleta de Vélez. Fuente: Estación Agroclimática de Vélez-Málaga (Junta de Andalucía).

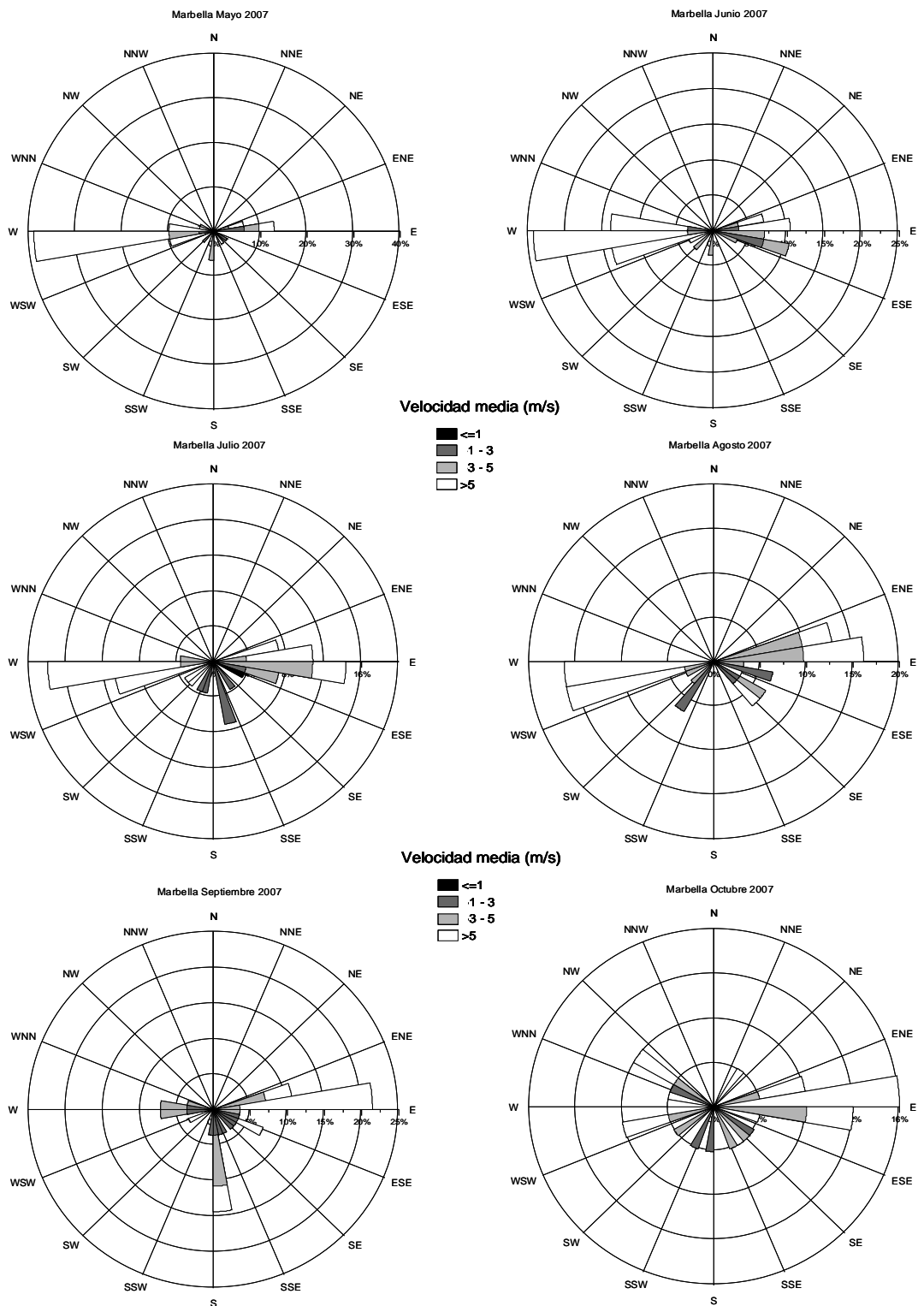


Figura 6.5a Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Marbella. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

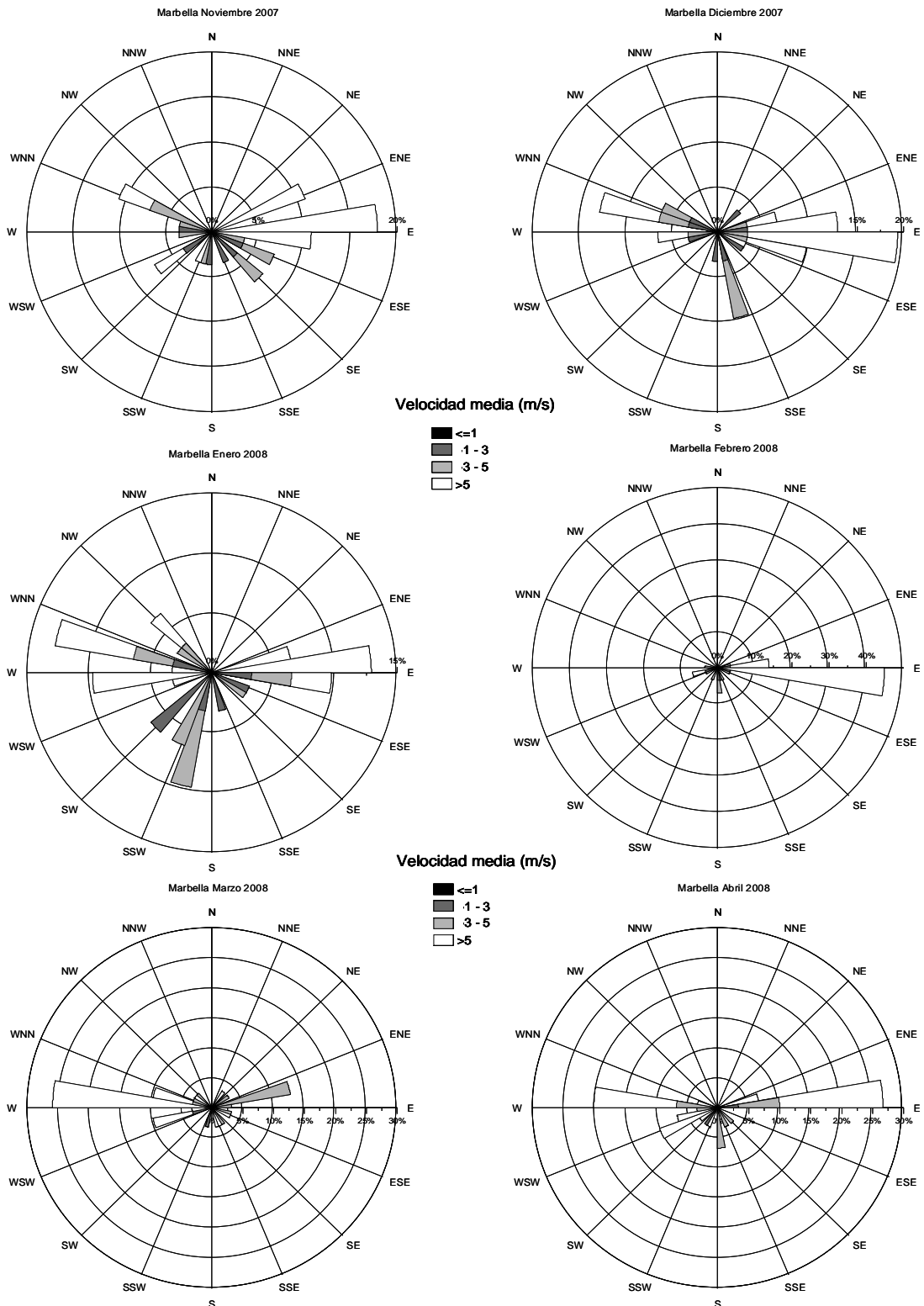


Figura 6.5b Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Marbella. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

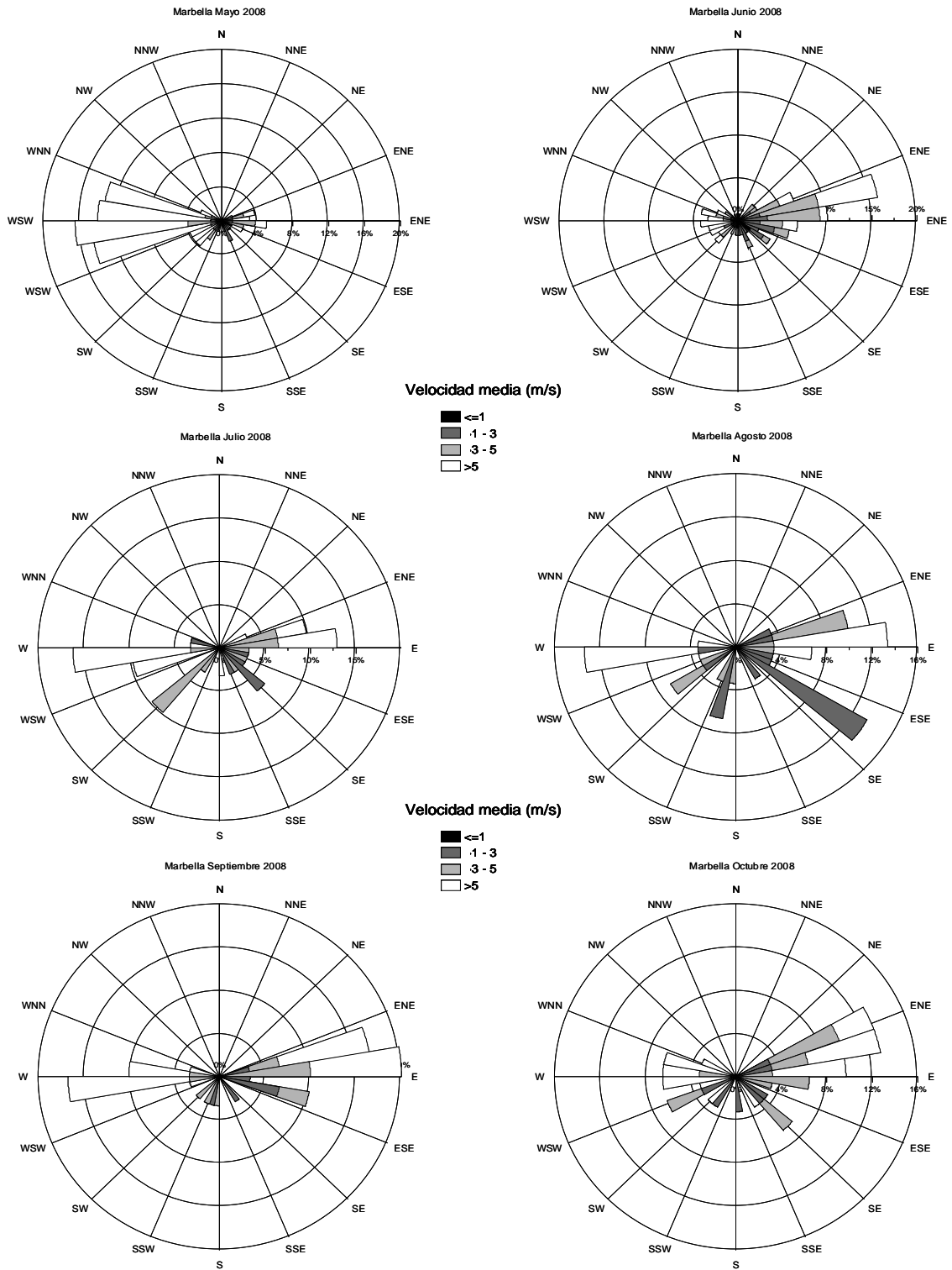


Figura 6.5c Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Marbella. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

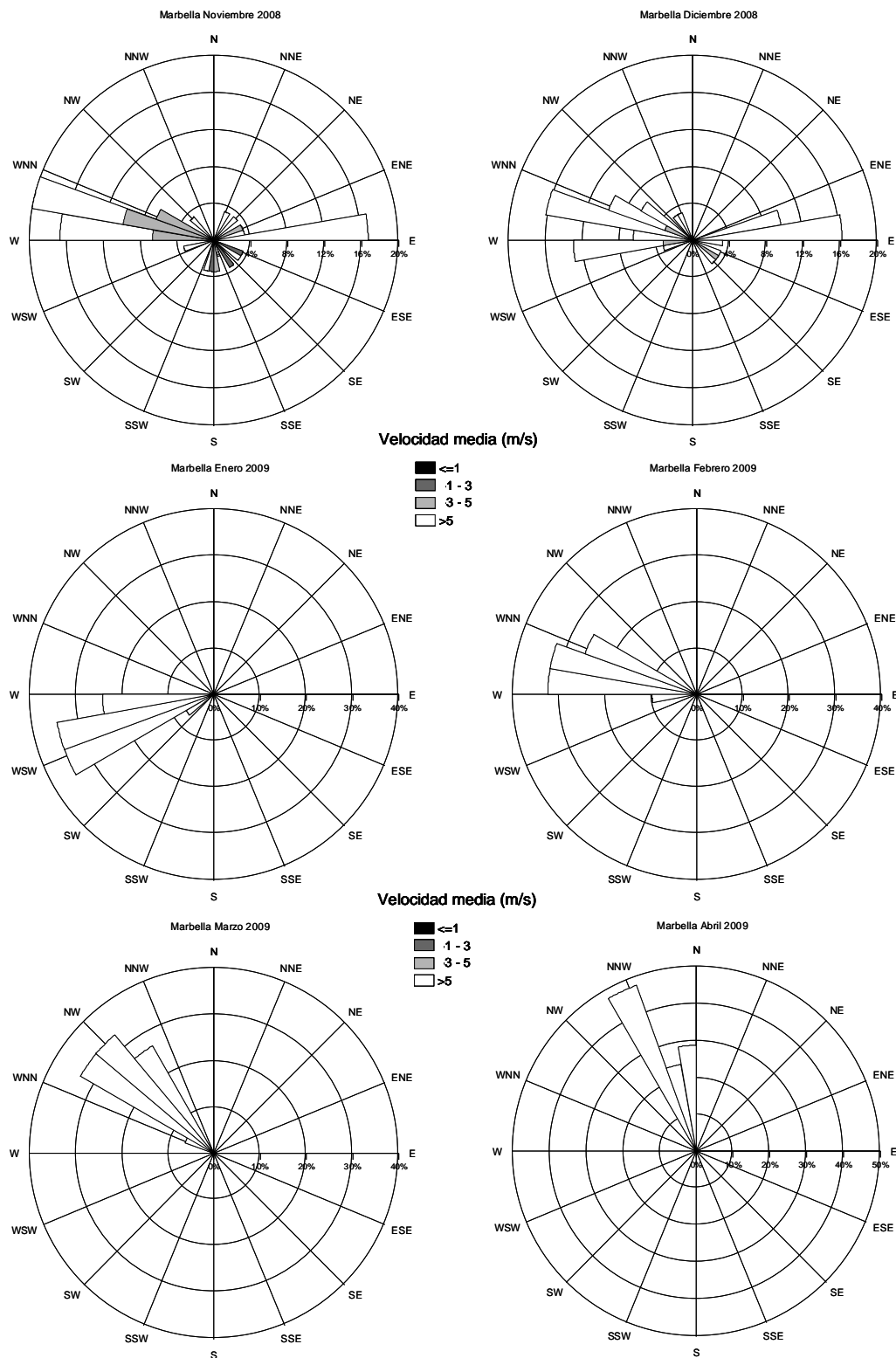


Figura 6.5d Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Marbella. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

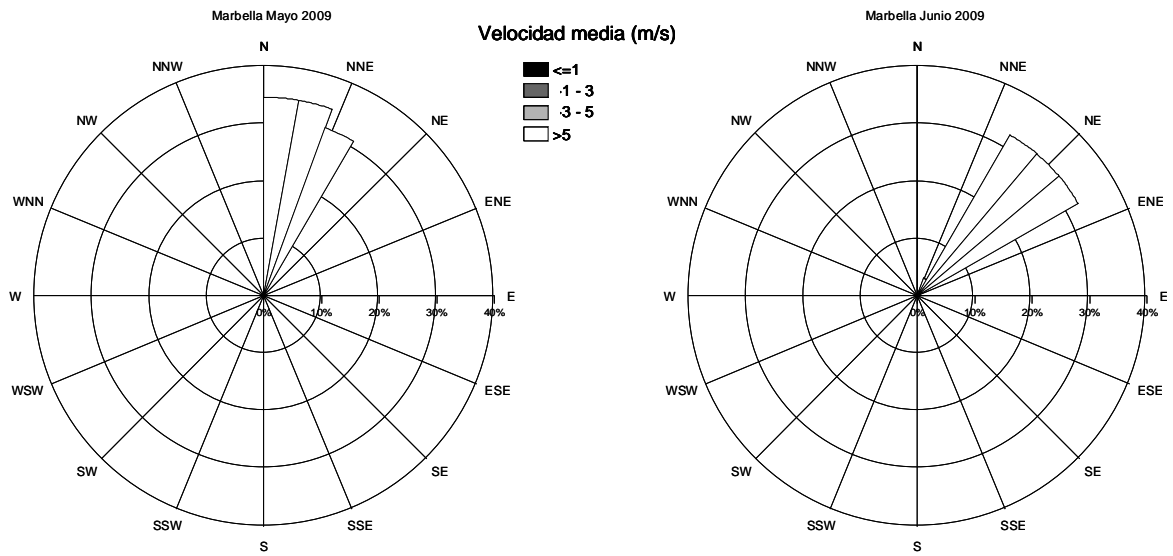


Figura 6.5e Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de Marbella. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.



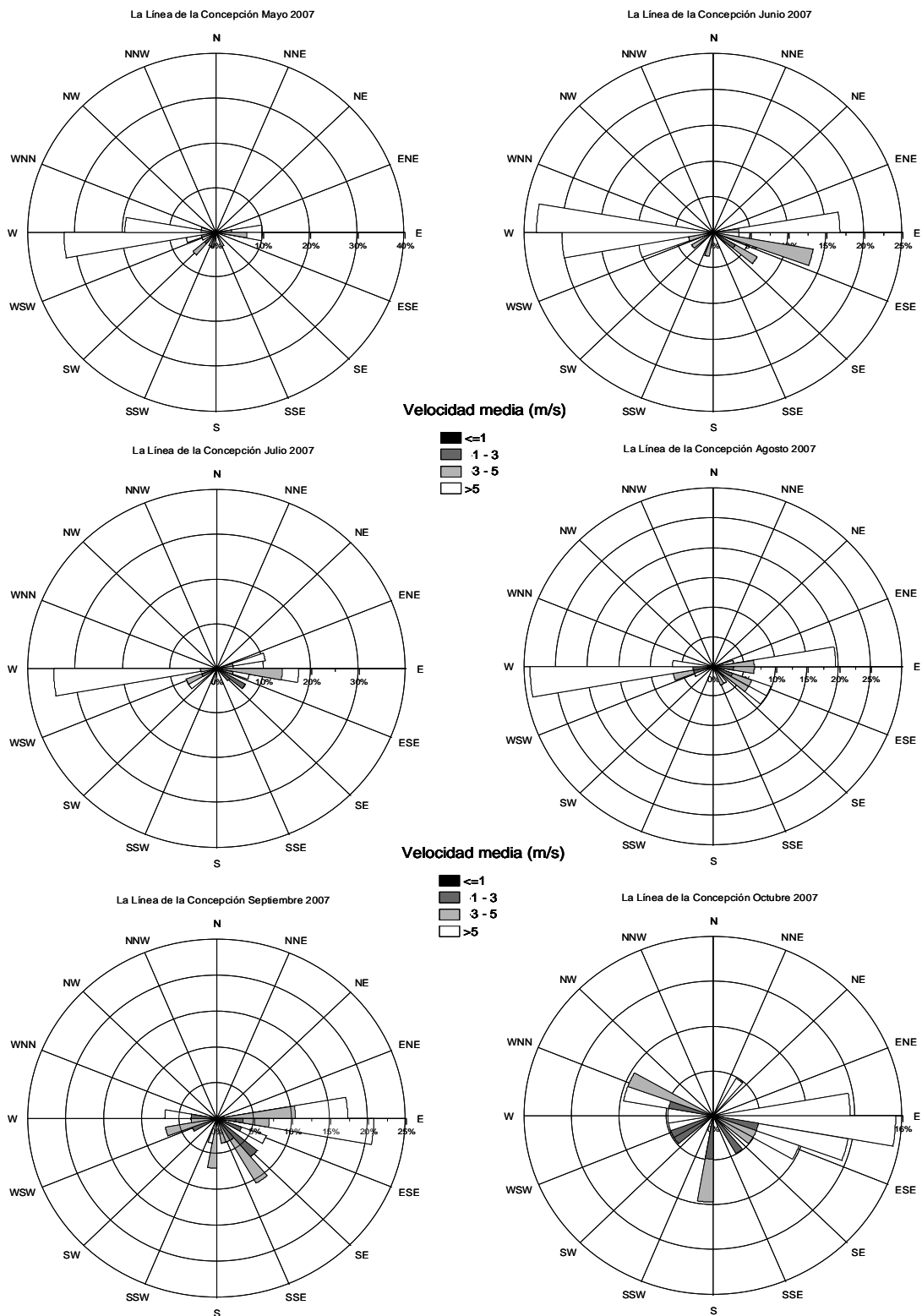


Figura 6.6a Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de La Línea de la Concepción. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

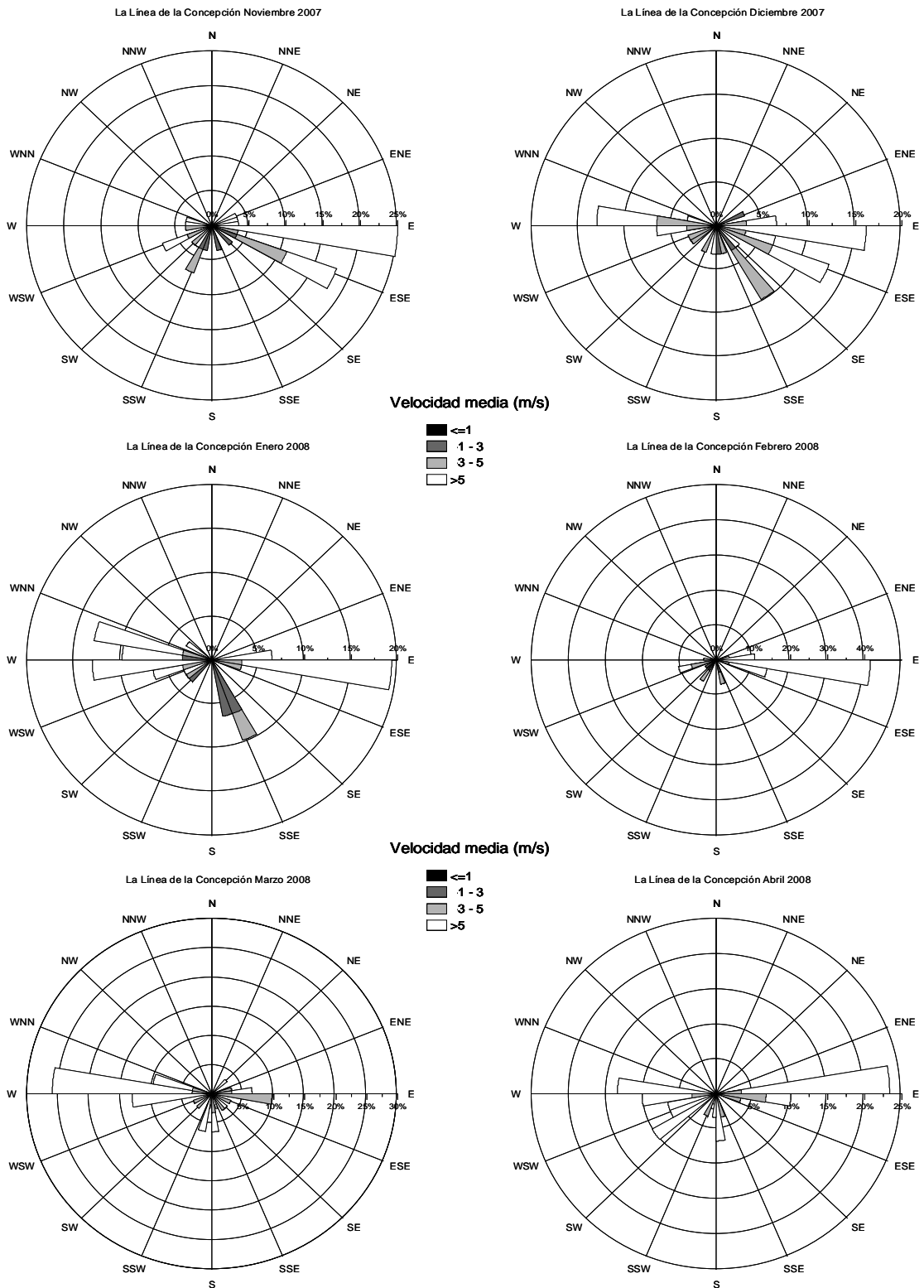
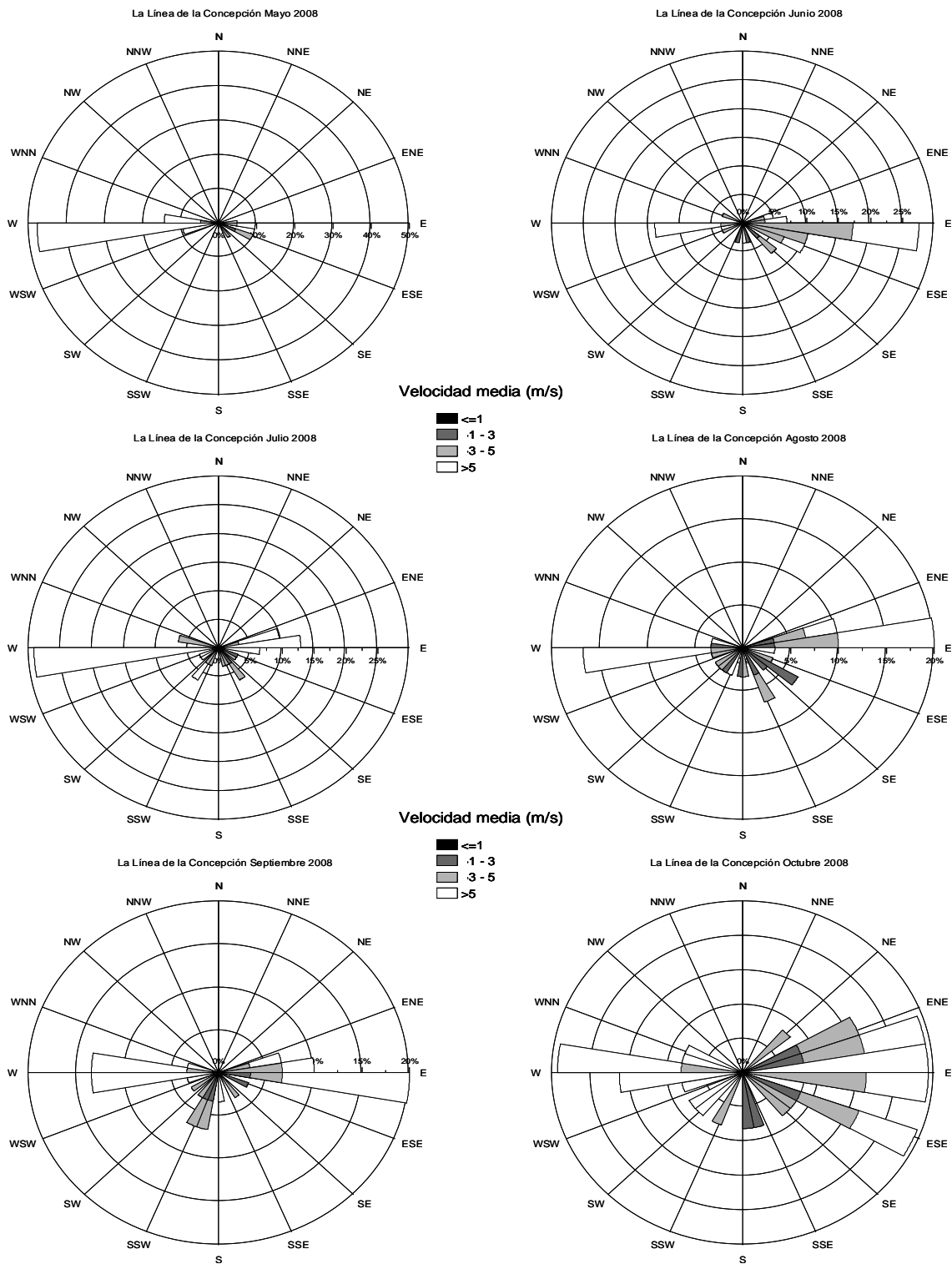


Figura 6.6b Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de La Línea de la Concepción. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.



**Figura 6.6c** Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de La Línea de la Concepción.  
**Fuente:** Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

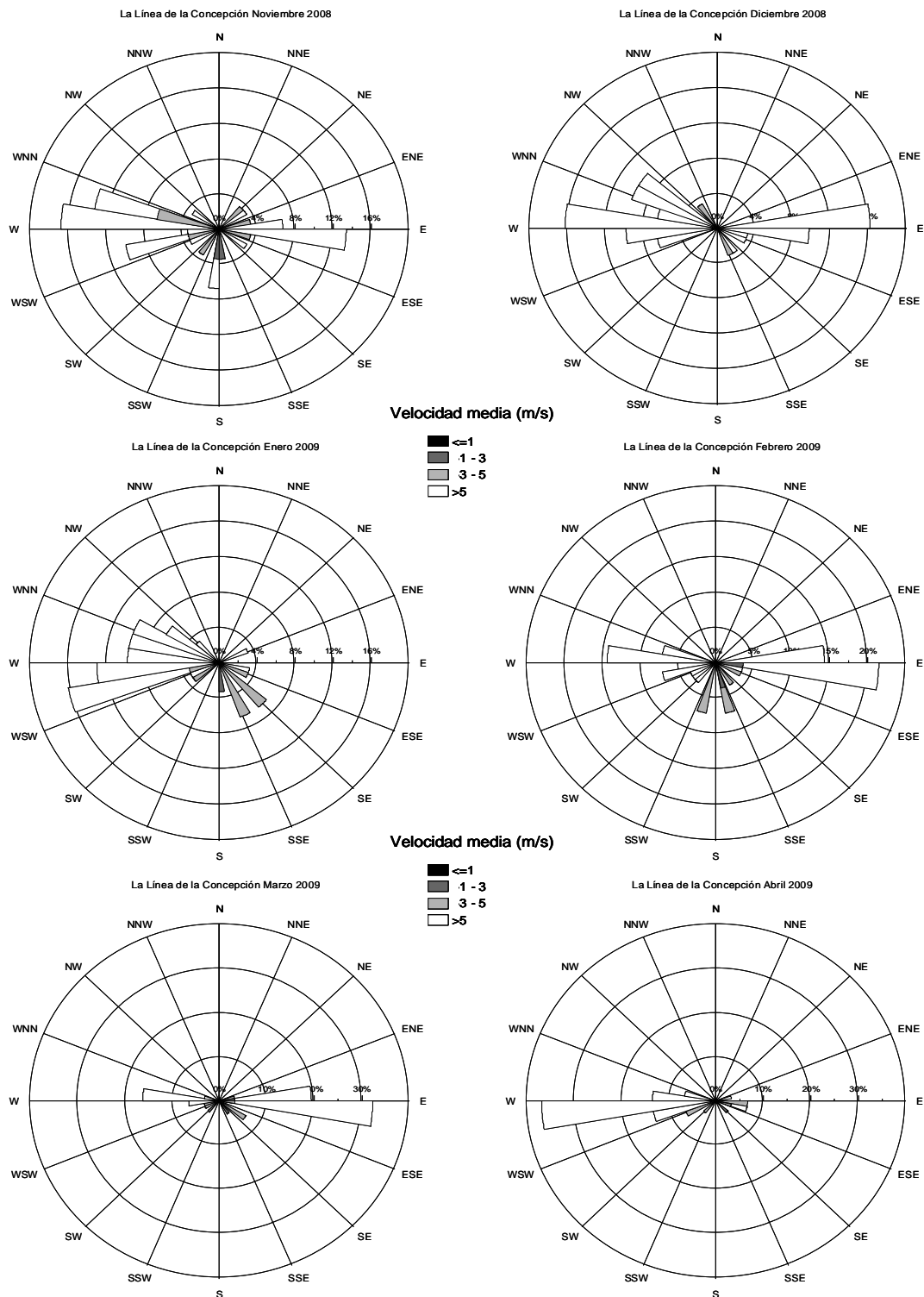
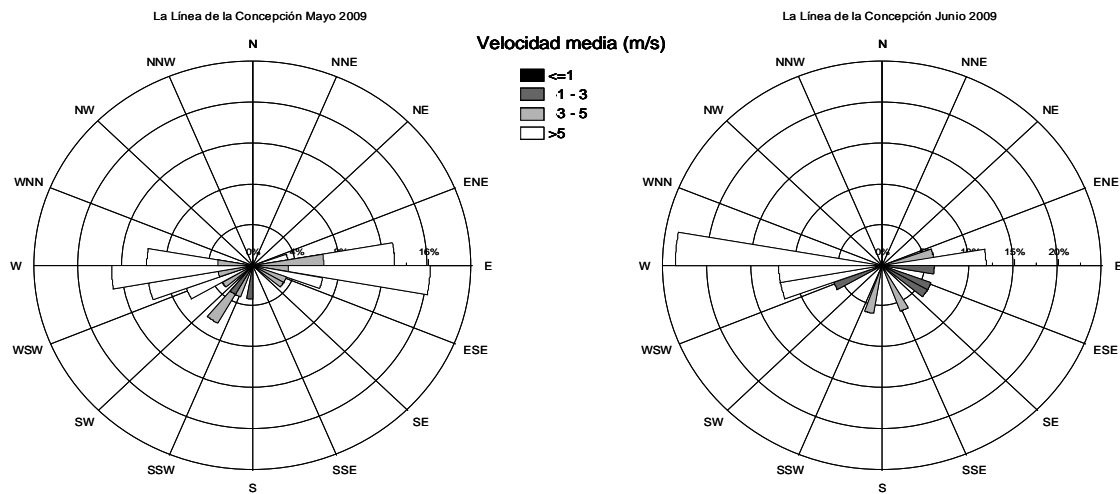


Figura 6.6d Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de La Línea de la Concepción. Fuente: Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.



**Figura 6.6e** Frecuencias de dirección y velocidad del viento mensuales en la instalación de La Línea de la Concepción. **Fuente:** Banco de datos oceanográficos de Puertos del Estado.

Los regímenes de vientos observados en el transcurso del proyecto son coherentes con los descritos en la caracterización ambiental en cada una de las zonas. Su análisis pone por tanto de manifiesto claras diferencias en los regímenes presentes en las instalaciones de cultivo. Mientras en Caleta de Vélez los vientos presentan un claro patrón estacional, en Marbella y La Línea de la Concepción se observa una mayor variabilidad en la dirección predominante. Este hecho podría deberse a la diferente orientación de las zonas estudiadas. La localización geográfica de la primera determina una mayor protección a los vientos de levante y poniente.

Asimismo, destaca la ausencia prácticamente total de vientos provenientes del primer cuadrante (Norte, Nordeste y Este). Esta circunstancia sugiere la existencia de algún obstáculo en las cercanías de la estación de medida, en cuyo caso las medidas registradas podrían no ser del todo correctas. Las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción se encuentran en zonas más abiertas, y por lo tanto más expuestas a los vientos, por lo que su intensidad en estas zonas es claramente mayor. Asimismo, la cercanía al Estrecho de Gibraltar, determina que la incidencia de los temporales de viento sea mayor en La Línea de la Concepción.

El régimen de viento constituye un factor de gran importancia para el cultivo del mejillón, especialmente en la región andaluza, donde se desarrolla en mar abierto. Este factor no sólo influyen en las condiciones oceanográficas de desarrollo del cultivo, sino que también determina las condiciones del mar y por tanto de laboreo en la instalación.

Si bien no existen registros, el contacto con los productores y la experiencia acumulada a lo largo de los muestreos mensuales nos permiten afirmar el fuerte impacto que este factor tiene sobre la producción de mejillón, ya que determina las condiciones de trabajo y limita durante importantes periodos de tiempo la posibilidad de extracción del producto. Dada la situación descrita anteriormente, este factor parece tener mayor importancia en las estaciones de La Línea de la Concepción y Marbella, si bien depende de la dirección predominante en cada momento.

6.1.2. Variables oceanográficas.

Los perfiles obtenidos a partir de los fondeos de CTD (Figuras 6.7, 6.8 y 6.9) ponen de manifiesto patrones de variación similares en las instalaciones estudiadas. La evolución de la temperatura muestra la sucesión estacional típica de climas templados.

En invierno se registran valores de temperatura menores y perfiles homogéneos en profundidad, como consecuencia de los procesos (vientos, temporales) de mezcla vertical. Por el contrario, el verano se caracteriza por la existencia de valores más elevados de temperatura y acusados gradientes verticales, como resultado de una mayor insolación y de la estratificación estival.

Tanto los rangos de temperatura registrados, con valores mínimos de 13.5°C en Caleta de Vélez en marzo de 2007 y máximos de 25.8°C en la misma zona en agosto de 2008, como sus valores medios revelan diferencias entre las diferentes áreas de cultivo. En Caleta de Vélez la amplitud de dicho rango es mayor, mientras que en Marbella y La Línea de la Concepción las temperaturas a lo largo del año son ligeramente más homogéneas. En estas últimas las temperaturas promedio son menores y las salinidades mayores que las registradas en Caleta de Vélez (Tabla 6.1).

**Tabla 6.1** Valores promedio anuales registrados por la sonda CTD

Instalación	Año	Temperatura (°C)	Salinidad (u.a.)	Clorofila µg/L
La Línea de la Concepción	2007			
	2008	16,16	37,16	5,13
Marbella	2007	17,08	37,09	3,90
	2008	16,58	37,13	4,42
Caleta de Vélez	2007	18,81	36,34	2,20
	2008	17,42	37,45	3,58

La salinidad muestra también un comportamiento estacional, si bien sus valores se encuentran correlacionados negativamente ( $r = -0.437$ ;  $P < 0.001$ ) con la temperatura. Es decir, las salinidades más elevadas aparecen asociadas a las aguas más frías y las más bajas a temperaturas más cálidas, por lo que los valores más altos se corresponden con los meses de invierno y viceversa.

En este caso las diferencias entre las instalaciones son menores, al ser la salinidad una variable más estable. La clorofila presenta un patrón de variación similar a de la temperatura ( $r = -0.736$ ;  $P < 0.001$ ) y la salinidad ( $r = 0.419$ ;  $P < 0.001$ ).

Las concentraciones más elevadas aparecen asociadas a aguas más frías y salinas, lo que determina que su distribución en profundidad sea diferente a lo largo del año. Durante el periodo de mezcla invernal, la clorofila presenta valores elevados en toda el perfil analizado. En primavera se observan máximos más acusados como consecuencia del inicio de la estratificación térmica de la columna de agua y el incremento de la insolación. Posteriormente en verano dada la presencia de la termoclina estacional, las mayores concentraciones de clorofila aparecen asociadas a niveles subsuperficiales y cercanos al fondo. La comparativa de los valores promedio (Tabla 6.1) pone de manifiesto una mayor abundancia de clorofila en las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción, con concentraciones entre 4.42 y 5 µg·L<sup>-1</sup>.

El patrón general descrito anteriormente muestra una clara variación estacional, con aguas frías, salinas y ricas en fitoplancton en invierno, y cálidas, menos salinas y asociadas a bajos niveles de fitoplancton en verano.

Sin embargo, los perfiles obtenidos ponen de manifiesto también importantes excepciones a dicho patrón, especialmente en verano. Así, en primavera y verano se observa la presencia de masas más frías y salinas que rompen la estratificación estival durante periodos que van de varios días a semanas, como consecuencia del afloramiento de aguas profundas.

Estos procesos, ampliamente descritos en la región occidental de la costa mediterránea andaluza (Cano, 1978; Cano & Lafuente, 1991; Sarhan et al., 2000), son consecuencia del patrón de circulación general existente en la zona (Figura 4.9), y suelen ir acompañados de intensos incrementos en los niveles de clorofila, como consecuencia de la mayor riqueza en nutrientes de esta agua (Gil, 1985; Reul et al., 2005).

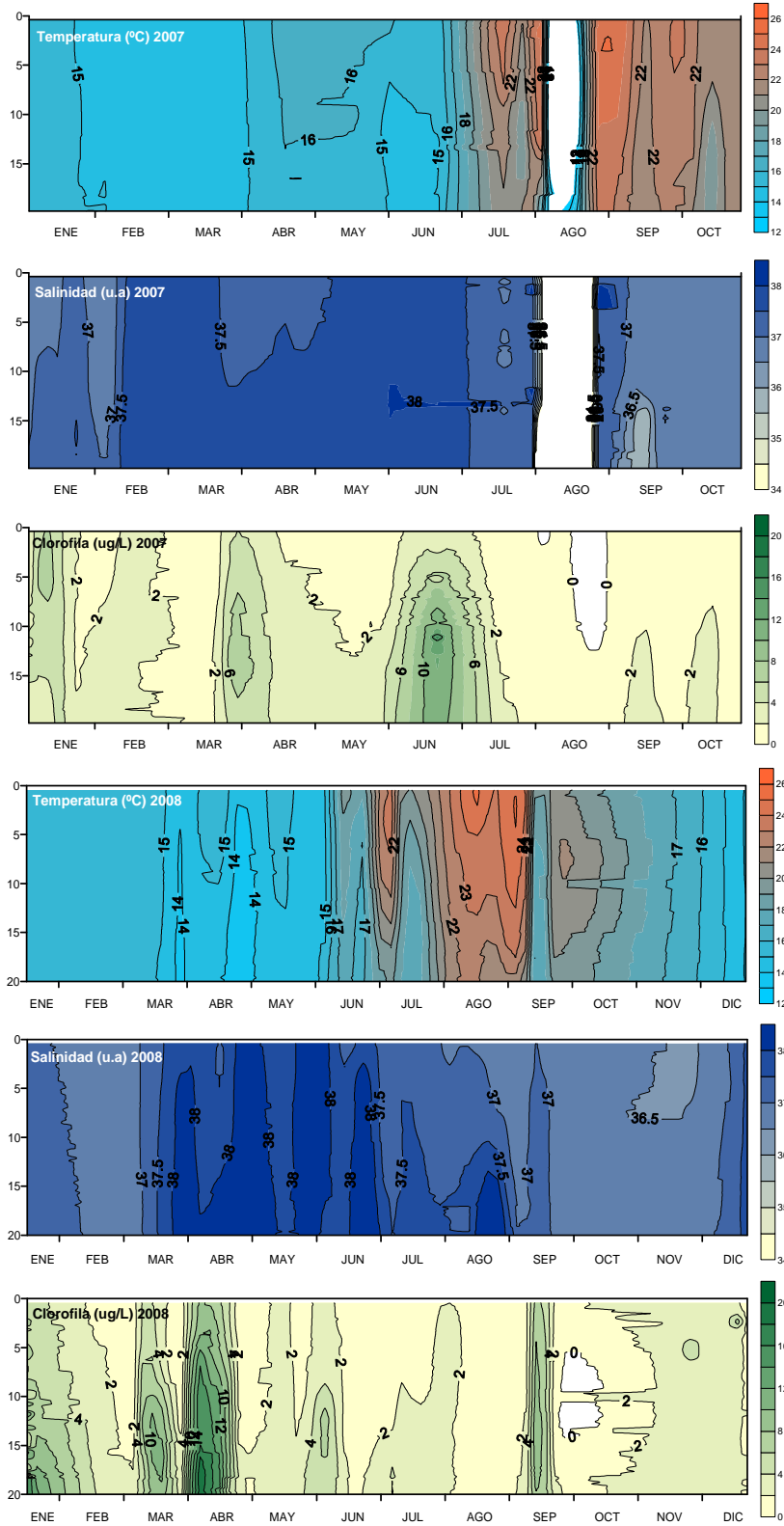


Figura 6.7 Variación anual de la temperatura, salinidad y clorofila en los años 2007 y 2008 en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP



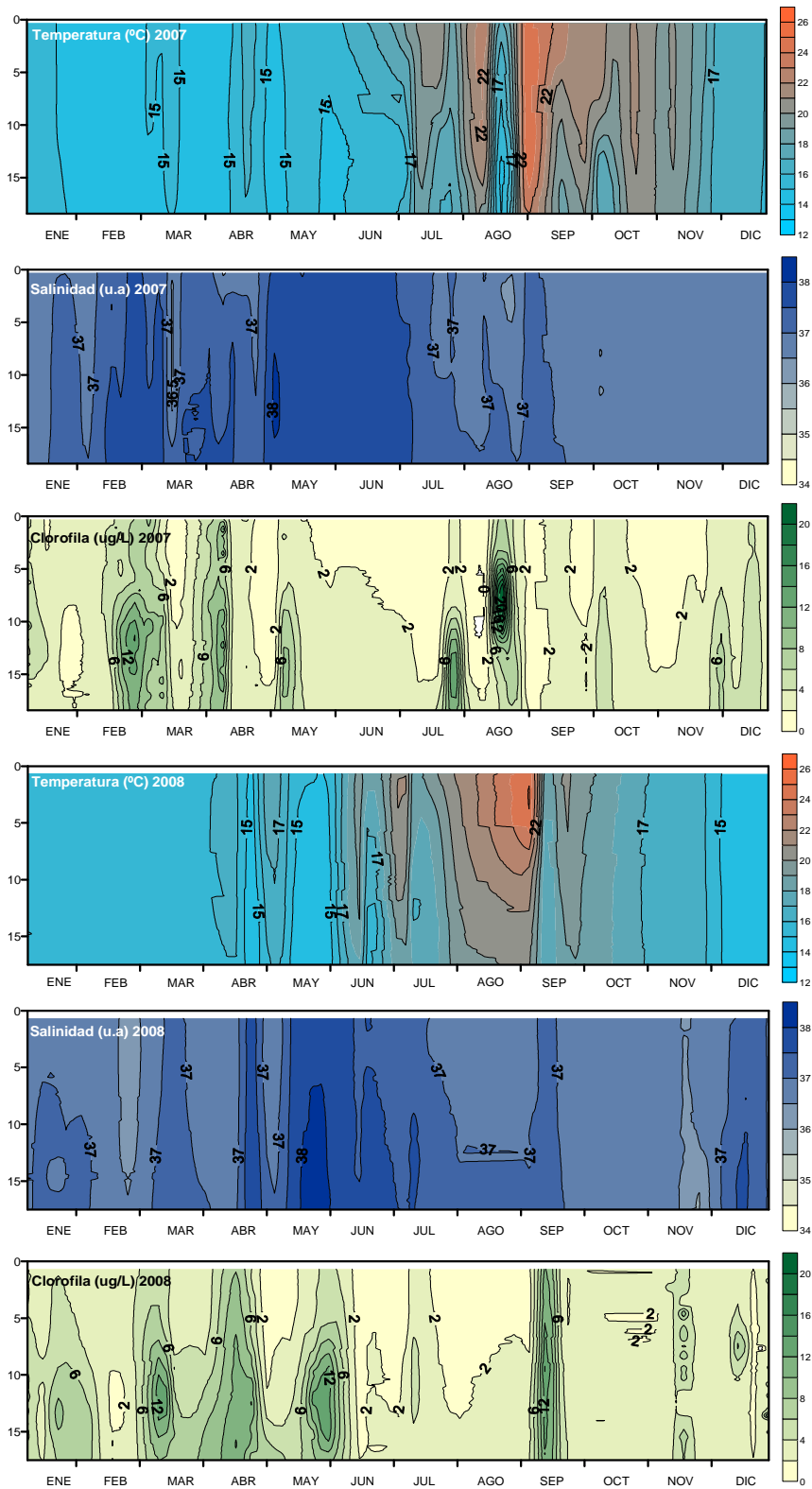
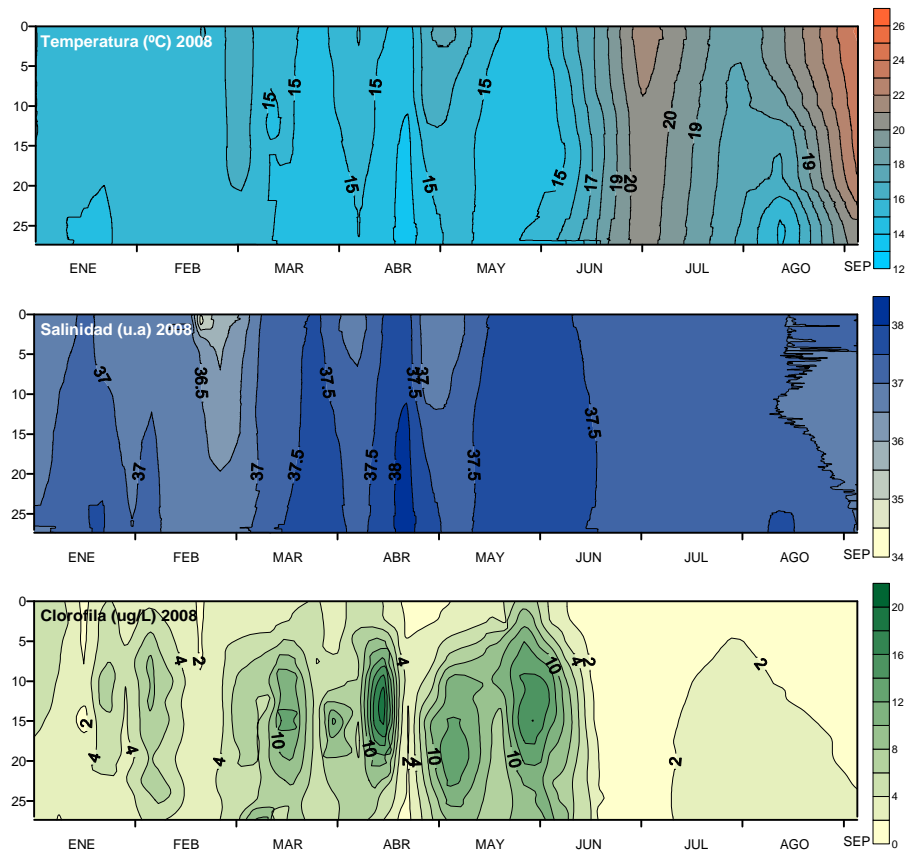


Figura 6.8 Variación anual de la temperatura, salinidad y clorofila en los años 2007 y 2008 en Marbella. Fuente: E.P. DAP



**Figura 6.9** Variación anual de la temperatura, salinidad y clorofila en el año 2008 en La Línea de la Concepción. **Fuente:** E.P. DAP

Los fondeos de fluorómetros en Caleta de Vélez y La Línea de la Concepción (Figura 6.10) apoyan los resultados descritos anteriormente. La evolución de la temperatura del agua en Caleta de Vélez muestra el comportamiento estacional característico de las costas andaluzas. Esto es, con temperaturas menores y más homogéneas en invierno, cuyos valores mínimos se sitúan en torno a los 14°C, seguidos de un progresivo aumento en primavera. Este proceso continúa hasta alcanzar valores máximos cercanos a los 28°C en verano y disminuir posteriormente en otoño. Si bien la serie temporal es menor, en La Línea de la Concepción la temperatura sigue el comportamiento estacional descrito anteriormente entre la primavera y comienzos del verano.

De nuevo, la variación de la clorofila describe un patrón inverso al anterior, con concentraciones que disminuyen al aumentar la temperatura del agua y viceversa. La evolución temporal de ambas variables en Caleta de Vélez permite apreciar la ocurrencia de los afloramientos de aguas profundas en otoño (septiembre y diciembre) de 2008, caracterizados por descensos bruscos de la temperatura e incrementos de la concentración de clorofila y de los valores de turbidez del agua. Al igual que los afloramientos detectados a partir de los datos de CTD, estos episodios coinciden con la predominancia de vientos de poniente en la zona (Figura 6.4c y 6.4d).

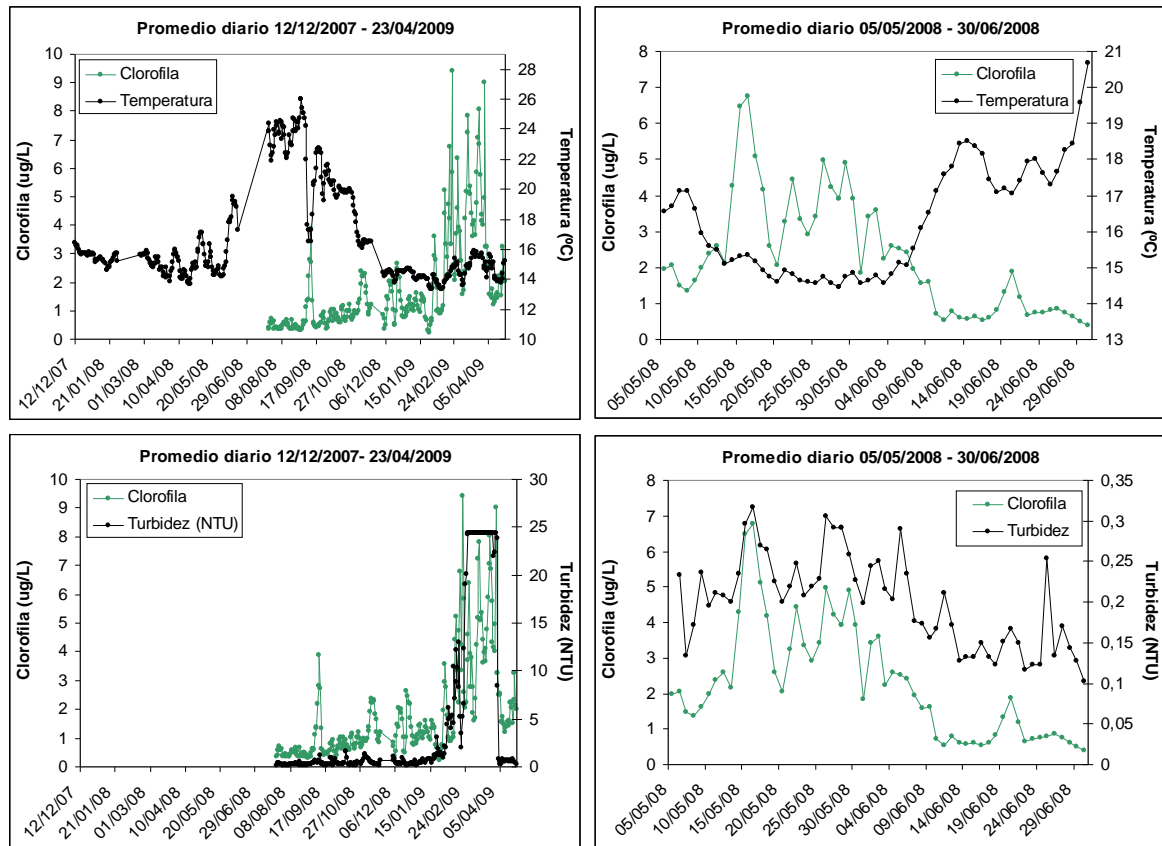


Figura 6.10 Evolución de la temperatura, clorofila y turbidez en las instalaciones de Caleta de Vélez (izquierda) y La Línea de la Concepción (derecha). Fuente: E.P. DAP

El análisis de las variables oceanográficas en las zonas de producción es de gran interés para conocer las condiciones en las que se desarrolla el cultivo. La temperatura es un factor de gran influencia sobre diversos aspectos biológicos del mejillón, tales como índices de condición (Hickman & Illingworth, 1980), crecimiento (Page & Hubbard, 1987) y reproducción (Zandee et al., 1980), y determinante para su supervivencia. La evolución anual de esta variable pone de manifiesto la variación estacional típica de zonas templadas, con valores de temperatura más elevados en verano y menores en invierno.

Este aspecto ha supuesto tradicionalmente un importante factor de preocupación para los productores de mejillón en nuestras costas, ya que ven en el incremento de temperaturas en verano un riesgo de disminución del crecimiento e incluso de mortandad del cultivo. Sin embargo, los datos obtenidos en las instalaciones de cultivo muestran un rango de variación entre los 12°C a los 25°C en valor promedio, es decir, por debajo de las temperaturas que determinan los umbrales de supervivencia del mejillón (Read and Cumming, 1967; Crăciun, 1980; Compton et al., 2007). Asimismo, a diferencia de otras zonas de producción en el Mediterráneo (Ramón et al., 2007), en nuestras costas no se han registrado episodios de mortandad ocasionados por ascensos de temperatura.

En el aspecto anterior juegan un importante papel el patrón de circulación general en el Mar de Alborán. Este determina la existencia de afloramientos costeros casi permanentes en la parte occidental de la cuenca y al Sur de la Bahía de Málaga (Cano, 1978; Gil, 1985; Viúdez et al., 1996; Sarhan et al., 2000), que permiten que las aguas no alcancen temperaturas excesivamente elevadas incluso en verano.

Asimismo, el ascenso de aguas frías y ricas en nutrientes provoca la fertilización de grandes áreas del litoral andaluz (Reul et al., 2005) que lleva asociada un incremento de la abundancia fitoplanctónica. Así, los afloramientos costeros en la región mediterránea occidental determinan las condiciones tróficas de desarrollo del cultivo del mejillón, siendo este uno de los factores más influyentes en el crecimiento de bivalvos en aguas templadas (Héral et al., 1989).

El régimen de viento predominante en las zonas de cultivo es un aspecto de gran interés para comprender los procesos hidrodinámicos que se producen en las mismas, y por tanto de las condiciones de desarrollo del cultivo. Si bien estos procesos parecen tener una mayor importancia en las instalaciones de La Línea de la Concepción y Marbella, la orientación de la costa mediterránea andaluza determina que, bajo vientos de poniente, estos afloramientos se intensifiquen y se extiendan hacia el Este.

Este hecho es observable a partir de los datos obtenidos en Caleta de Vélez, donde si bien la temperatura del agua es ligeramente mayor que en las otras zonas estudiadas, los datos de CTD y del fluorómetro muestran bruscos descensos de temperatura asociados a vientos de poniente. Cuando su duración e intensidad son suficientes (por ejemplo, segunda semana de octubre de 2008, Figuras 6.7 y 6.10) van asociados a aumentos muy elevados de la abundancia de fitoplancton.

Finalmente, los registros obtenidos ponen de manifiesto un gradiente en las características de las masas de agua (Tabla 6.1). La instalación situada en La Línea de la Concepción presenta aguas más frías y menos salinas como consecuencia de la influencia atlántica. Estas presentan niveles altos de clorofila asociados al afloramiento costero. Por el contrario, en Caleta de Vélez, la instalación más oriental, presenta características más propias del Mediterráneo, con aguas más cálidas y salinas, y en consecuencia menor abundancia de fitoplancton. La instalación de Marbella se caracteriza por una situación intermedia, con aguas relativamente frías y salinas y elevados niveles de clorofila.

### 6.1.3. Corrientes.

En el apartado 4 se incluye una caracterización del régimen de corrientes existente en las instalaciones incluidas en el proyecto. Sin embargo, con la intención de establecer la dinámica existente durante el estudio del cultivo de mitílidos, se ha realizado en la instalación de Caleta de Vélez un estudio de corrientes adicional, mediante el fondeo en dos periodos diferentes (primavera-verano e invierno) de un correntímetro Nortek Aquadopp (ver apartado 5.1.1).

El primer fondeo se llevó a cabo entre finales de mayo y mediados de septiembre de 2008. Las rosas de corriente obtenidas durante el periodo estudiado (Figura 6.11) ponen de manifiesto la ausencia de una dirección de corriente predominante a lo largo de la columna de agua, si bien se observa una mayor frecuencia de corrientes del Noreste y Suroeste. Asimismo, al profundizar se observa un giro de la corriente del Sureste a la componente Este.

Las corrientes descritas en este periodo aparecen relacionadas con vientos del Sur y Suroeste principalmente. Las velocidades comprendidas en este periodo alcanza valores en torno a los  $0.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ , si bien disminuyen ligeramente en los niveles inferiores (Tabla 6.2).

En el fondeo realizado en invierno (entre los meses de enero y abril) las corrientes muestran un patrón similar al observado en el periodo anterior, sin una predominancia muy clara de una dirección de corriente (Figura 6.12). Sin embargo, la frecuencia predominante muestra un ligero desplazamiento hacia corrientes del Este en superficie.

En los niveles inferiores la componente Este se conserva, si bien se corresponden con corrientes del Noreste. Durante todo el periodo de fondeo, las corrientes obtenidas se encuentran asociadas a vientos del Noroeste (Figura 6.4d). Aunque no se observan diferencias significativas entre verano e invierno, las velocidades de corriente registradas en el último periodo fueron ligeramente menores (Tabla 6.2) a las obtenidas en verano.

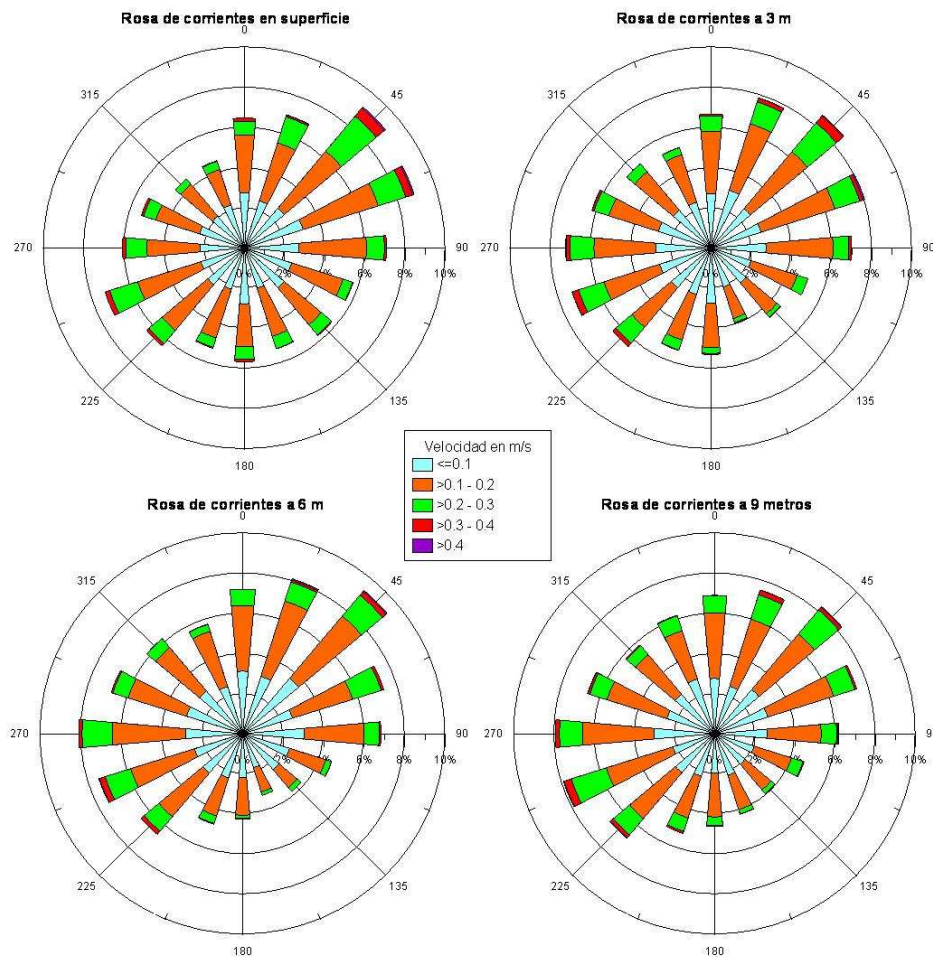


Figura 6.11 Rosa de corrientes correspondiente al fondeo realizado entre mayo y septiembre de 2008 en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

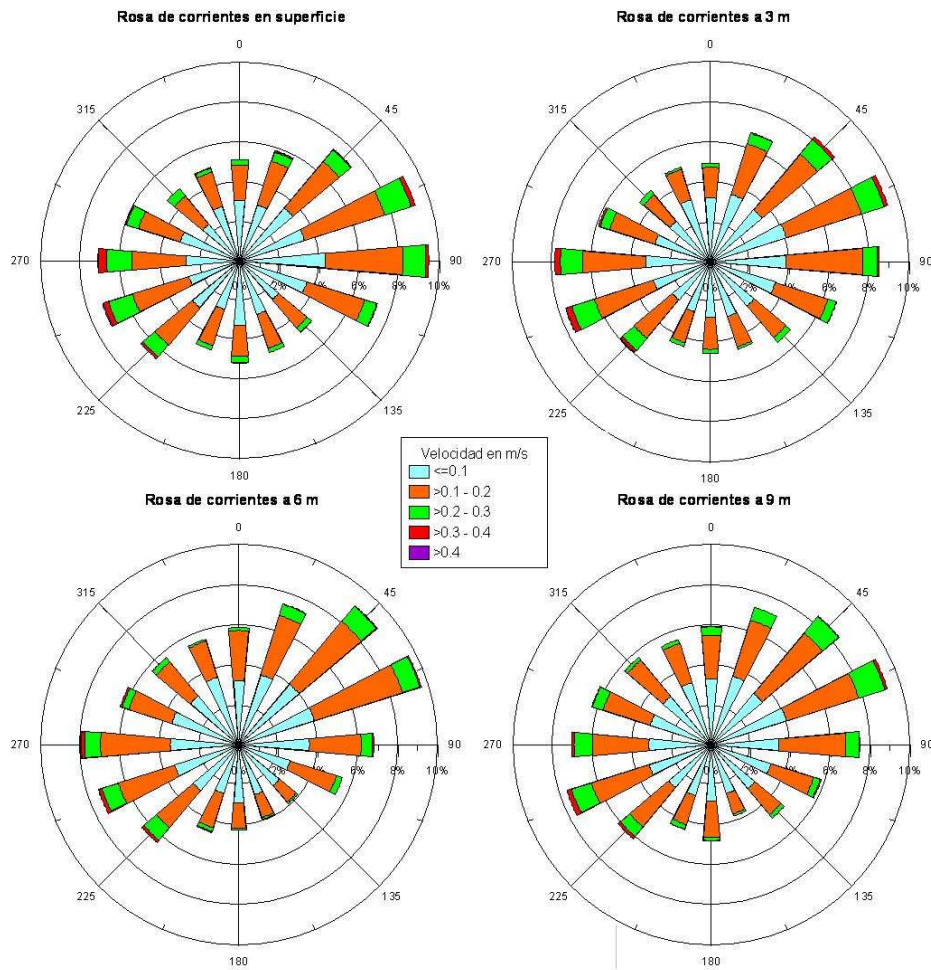


Figura 6.12 Rosa de corrientes correspondiente al fondeo realizado entre enero y abril de 2009 en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

Tabla 6.2 Velocidades ( $m \cdot s^{-1}$ ) horizontales máximas fondeos primavera-verano e invierno

Posición	Velocidad máxima verano	Velocidad máxima invierno
Superficie	0,54	0,46
3 metros	0,57	0,45
6 metros	0,52	0,44
9 metros	0,47	0,39

Al igual que en el caso de la hidrodinámica horizontal, las velocidades verticales obtenidas en ambos fondeos (Figuras 6.13, 6.14 y Tabla 6.3) son muy similares. Si bien presentan valores poco significativos, en ambos casos describen una ligera tendencia hacia el hundimiento de la masa de agua.

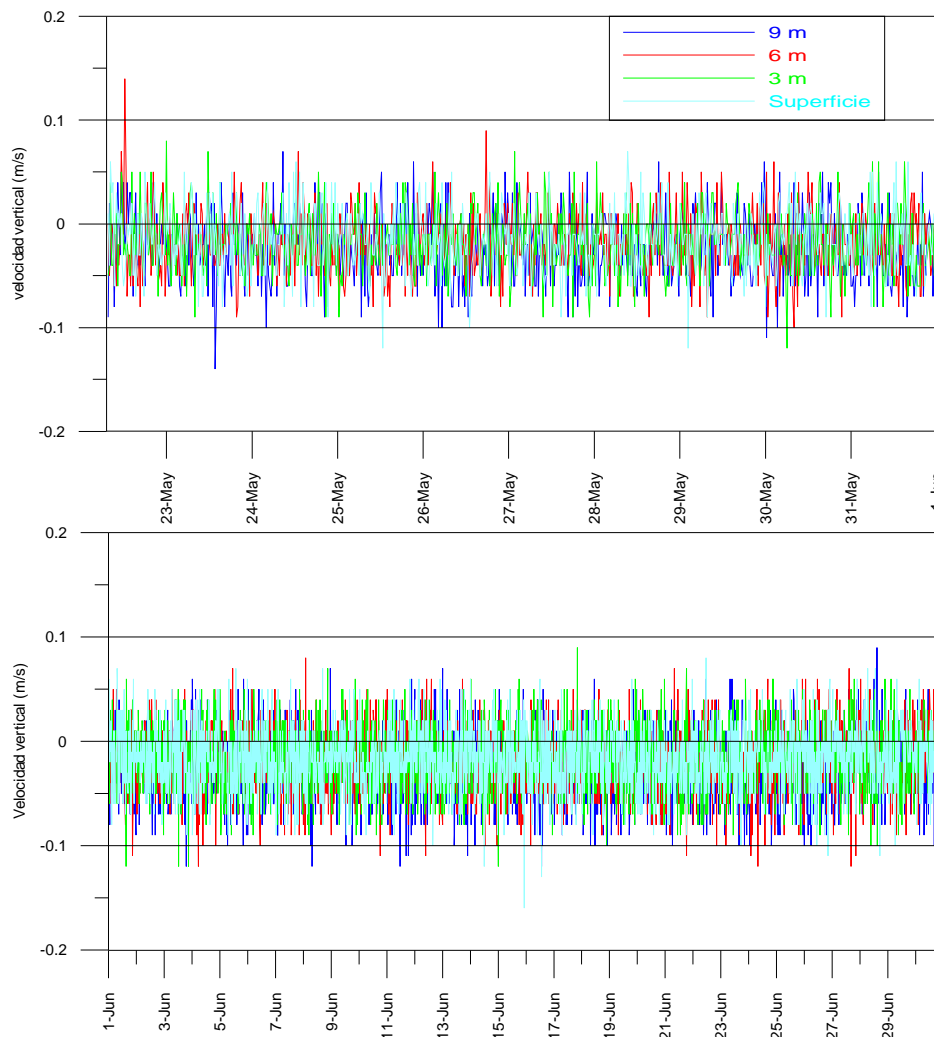


Figura 6.13a Velocidades verticales registradas durante el fondeo estival. Fuente: E.P. DAP

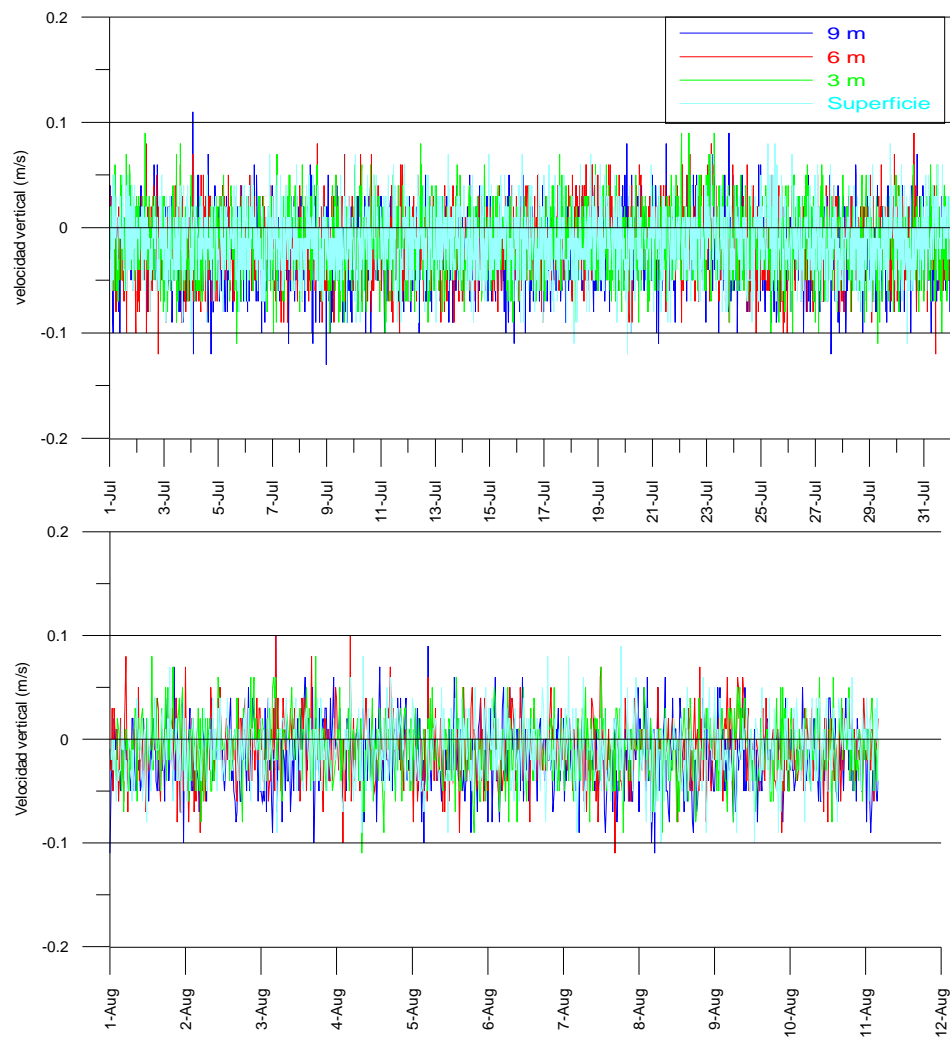


Figura 6.13b Velocidades verticales registradas durante el fondeo estival. Fuente: E.P. DAP

Tabla 6.3 Velocidades verticales ( $m \cdot s^{-1}$ ) fondeos primavera-verano e invierno

Fondeo	Valores	9 metros	6 metros	3 metros	superficie
verano	Promedio	-0,02	-0,02	-0,01	-0,01
	Máximo	0,11	0,14	0,09	0,09
	Mínimo	-0,14	-0,12	-0,12	-0,16
invierno	Promedio	-0,02	-0,02	-0,01	-0,02
	Máximo	0,08	0,09	0,08	0,10
	Mínimo	-0,12	-0,12	-0,12	-0,10



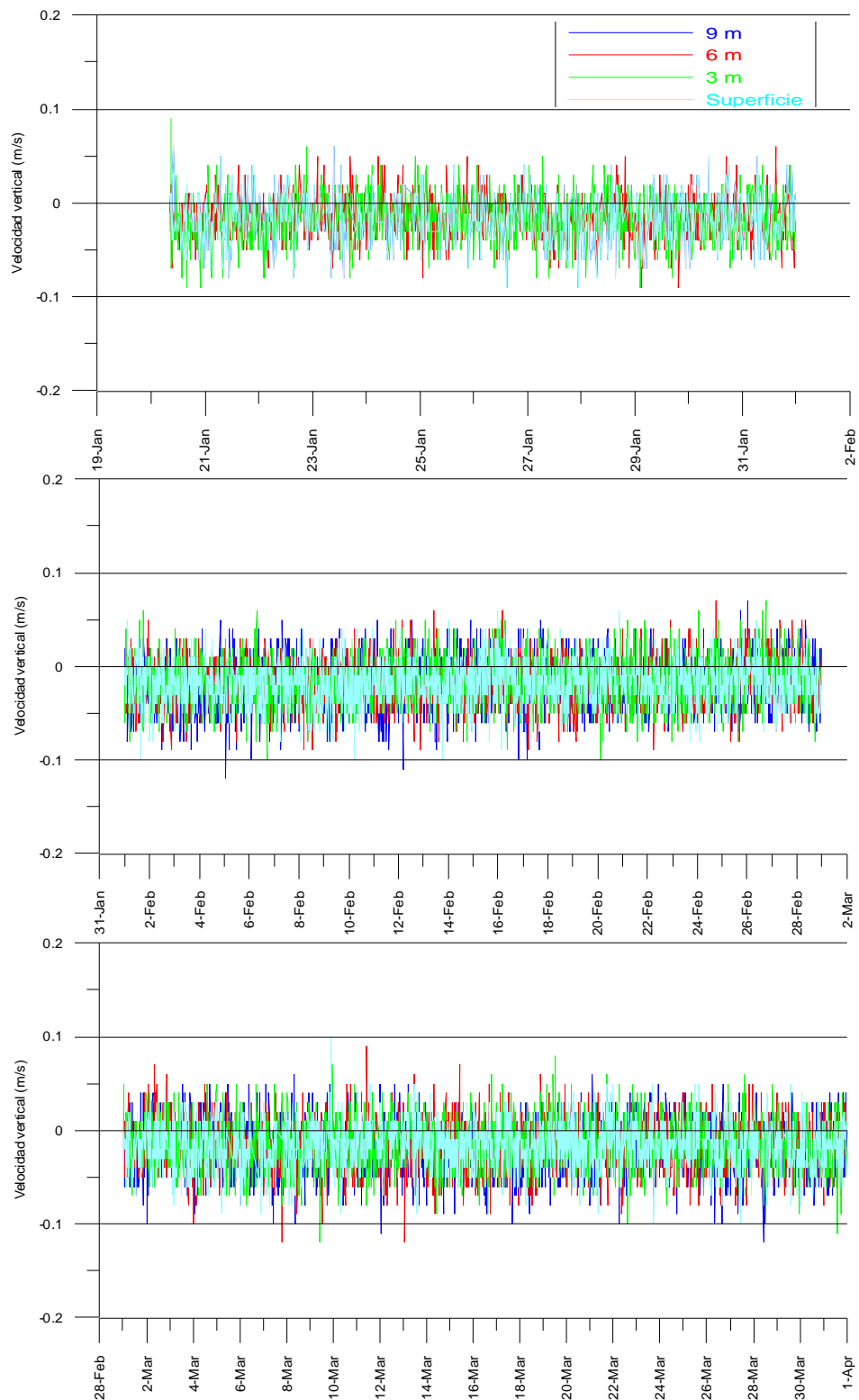


Figura 6.14 Velocidades verticales registradas durante el fondeo invernal. Fuente: E.P. DAP

La caracterización del patrón hidrodinámico presente en las zonas de cultivo es de gran interés, ya que determina la disponibilidad de alimento en la zona (Fréchette et al., 1989). El análisis de corrientes realizado en Caleta de Vélez pone de manifiesto una dinámica medianamente intensa, con valores máximos de hasta  $0.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Es destacable la similitud de los regímenes hidrodinámicos observados en el periodo estival e invernal. Si bien en ambos periodos la corriente predominante, hacia el Este principalmente, está asociada a vientos de componente Oeste, al contrario de lo que podría esperarse (Cano, 1991) los temporales de viento ocurridos durante el invierno no se traducen en una mayor intensidad de corriente.

El patrón de corrientes observado contrasta con el descrito en la caracterización ambiental de la zona (apartado 4.1.3, Figura 4.3), en el que se pone de manifiesto una clara predominancia de corrientes hacia el Oeste y en menor medida hacia el Este, asociadas a vientos del Este y Oeste respectivamente. Es preciso destacar que dicha caracterización se corresponde con un fondeo realizado entre los meses de agosto y octubre de 2002 a 10 metros de profundidad en un punto fuera del polígono de cultivo. No es por tanto de extrañar, que las mayores similitudes entre dicho fondeo y nuestros registros, se corresponda con las corrientes observadas durante el fondeo estival a 9 metros de profundidad, en el que se observa una elevada frecuencia de corrientes hacia el Oeste (Figura 6.11). Por su parte, las velocidades verticales, si bien con intensidades pequeñas, ponen de manifiesto desplazamientos descendentes de la masa de agua en esta zona.

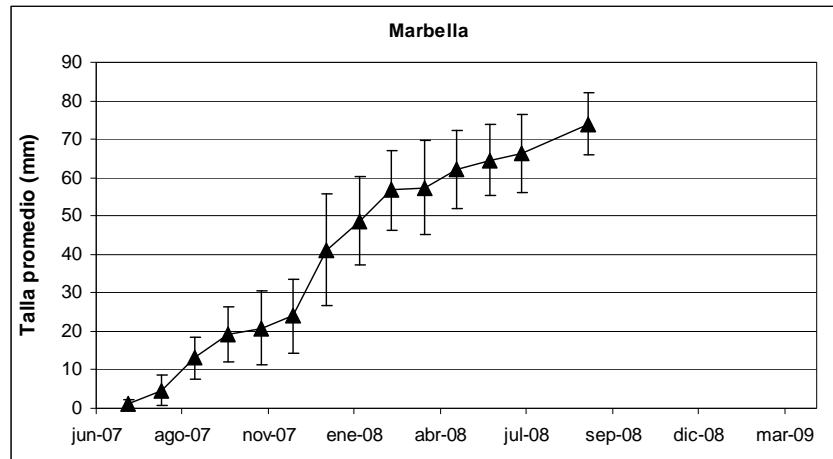
## 6.2 Estudio del crecimiento e índices de condición de las poblaciones cultivadas mediante los diferentes sistemas y zonas geográficas.

### 6.2.1. Crecimiento.

El estudio del crecimiento de la semilla de mejillón mediante el programa FISAT II no ha permitido diferenciar de manera clara las cohortes en las poblaciones analizadas, ya que la agrupación por clases de tamaño enmascaraba la fijación de individuos de pequeño tamaño. Por ello, se ha optado por mostrar únicamente las distribuciones de talla y las tasas de crecimiento obtenidas a partir de estas.

Las figuras 6.15, 6.16 y 6.18 muestran el tamaño promedio mensual obtenido en cada instalación durante el primer ciclo de cultivo estudiado. Como se recoge en el apartado 5.2.1, el origen de la semilla analizada en cada instalación ha sido diferente.

En Caleta de Vélez y Marbella se ha analizado la semilla fijada en cuerdas colectoras entre mayo y junio de 2007. Aunque su seguimiento comenzó en julio del mismo año, el tamaño promedio obtenido al inicio de la experiencia fue ligeramente inferior en Marbella (Tablas 6.4, 6.5 y 6.6) ( $P < 0.001$ ), si bien en esta instalación la población alcanzó antes la talla comercial (en torno a los 7 cm) (Pérez Camacho et al., 1991), definiendo un ciclo de cultivo con una duración aproximada de 14 meses.



**Figura 6.15** Evolución temporal del tamaño promedio de la longitud de concha en Marbella. **Fuente:** E.P. DAP

Durante el mismo la evolución de talla muestra un crecimiento continuado de la semilla, casi sin épocas de parada. El periodo de mayor crecimiento se sitúa entre diciembre de 2007 y marzo de 2008, con un incremento de más del doble de la talla, y tasas de crecimiento de hasta 12.92 mm/mes (enero 2008).

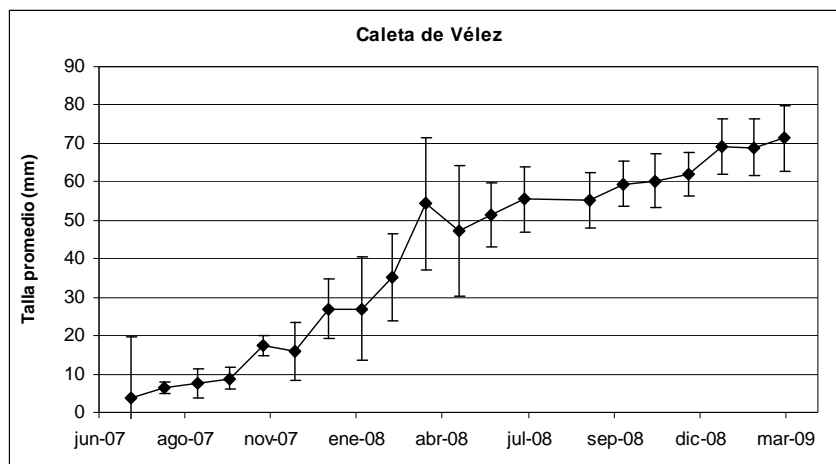
El mayor crecimiento se corresponde por tanto con los meses de invierno, caracterizado por bajas temperatura y elevadas concentraciones de clorofila en toda la columna de agua (Figura 6.8). Además, se observan intensos periodos de crecimiento entre agosto y septiembre de 2007, y entre julio y septiembre de 2008, con incrementos de hasta 7.82 mm/mes (septiembre 2007). En este caso, el crecimiento se corresponde con dos intensos afloramientos (especialmente en agosto de 2007), que determinan la presencia de aguas más frías y ricas en fitoplancton que en el resto del periodo estival (Figura 6.8).

Entre estos periodos, se observan otros de menor crecimiento, como abril y comienzos de verano de 2008. El primero parece estar relacionado con procesos reproductivos y el segundo con la estratificación estacional. Sin embargo, no se ha observado ninguna relación estadísticamente significativa entre la distribución de talla o las tasas de crecimiento y los parámetros ambientales.

**Tabla 6.4** Tamaño promedio en la instalación de Marbella

Mes	Longitud (mm)	Desviación	Individuos
jul-07	1,08	1,21	1261
ago-07	4,70	4,09	672
sep-07	13,04	5,59	1041
oct-07	19,22	7,05	934
nov-07	20,82	9,53	859
dic-07	23,96	9,66	456
ene-08	41,18	14,44	217
feb-08	48,74	11,39	262
mar-08	56,75	10,33	138
abr-08	57,39	12,15	166
may-08	62,04	10,25	135
jun-08	64,46	9,21	169
jul-08	66,36	10,27	174
sep-08	73,90	8,13	127

La evolución de talla observada en Caleta de Vélez (Figura 6.16) muestra un patrón de crecimiento más heterogéneo que el descrito en Marbella, con periodos de intenso crecimiento seguido de aumentos de talla menores e incluso paradas del mismo.



**Figura 6.16** Evolución temporal del tamaño promedio de la longitud de concha en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

Esta circunstancia determina que el ciclo de cultivo en esta instalación tenga una duración de aproximadamente 16-18 meses, claramente superior al observado en Marbella. Los periodos de mayor crecimiento se producen a comienzos del otoño de 2007, e invierno de 2008, asociados a la disminución de la temperatura y al periodo de mezcla vertical. Sin embargo las mayores tasas de crecimiento se observaron entre marzo y abril de 2008, en el que se produjo un incremento de 21.22 mm en la talla promedio, asociado a un intenso “bloom” fitoplanctónico (Figura 6.7).

Asimismo, se observan crecimientos significativos en verano (junio-julio de 2008) asociados a un episodio de afloramiento. La relación con estas variables ambientales se pone de manifiesto en las correlaciones significativas obtenidas entre la tasa de crecimiento y la temperatura ( $r=-0.775$ ;  $P<0.05$ ) y la relación lineal con la concentración de clorofila ( $R^2=0.87$ ;  $P<0.001$ ) en esta instalación (Figura 6.17).

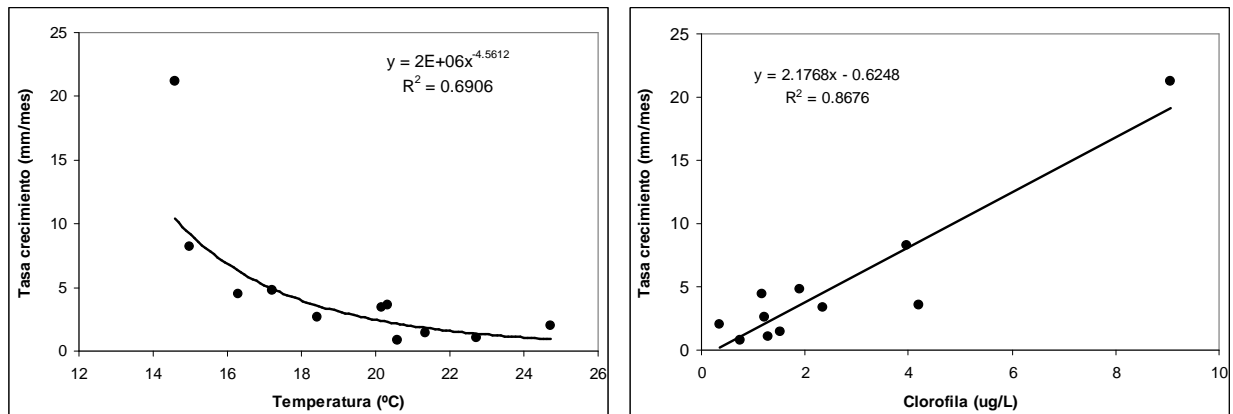


Figura 6.17 Evolución temporal del tamaño promedio de la longitud de concha en Marbella. Fuente: E.P. DAP

Tabla 6.5 Tamaño promedio en la instalación de Caleta de Vélez

Mes	Longitud (mm)	Desviación	Individuos
jul-07	3,68	1,50	4638
ago-07	6,39	3,81	1068
sep-07	7,66	2,76	1171
oct-07	8,88	2,58	221
dic-07	15,84	7,88	582
feb-08	26,95	11,30	271
mar-08	35,20	17,13	709
abr-08	54,30	17,00	150
may-08	47,32	8,20	334
jun-08	51,49	8,51	236
jul-08	55,58	7,23	231
sep-08	55,31	5,79	209
oct-08	59,51	6,95	256
nov-08	60,27	5,53	174
dic-08	62,03	7,17	208
ene-09	69,30	7,53	159
feb-09	68,98	8,54	130
mar-09	71,33	7,17	110

La disminución de talla observada en mayo de 2008 es consecuencia de los procesos de laboreo propios del cultivo (desdoble), que determinan la mezcla de individuos de diversas cuerdas y provocan ligeras disminuciones de la talla promedio.

Si bien el estudio del crecimiento del mejillón cultivado se inició en el mismo momento en las tres instalaciones (julio 2007), diversas incidencias han provocado que el desarrollo de la experiencia no haya sido el mismo en todas las zonas. Diversos temporales de levante ocurridos en febrero de 2008 provocaron daños (Fotografía 5.6) en la instalación de La Línea de la Concepción, que tuvo entre otras consecuencias la pérdida de las cuerdas utilizadas para el seguimiento del crecimiento. Adicionalmente, se produjo la depredación de la semilla sembrada posteriormente, por lo que los registros de crecimiento en esta instalación abarcan una serie temporal menor que en las otras zonas de estudio, incluyendo únicamente el intervalo entre los meses de julio de 2007 a enero de 2008 (Figura 6.18, Tabla 6.6).

Esta circunstancia dificulta la identificación de cualquier patrón de crecimiento en esta instalación de cultivo. Sin embargo, responsables de la empresa productora, así como experiencias previas (Tirado & Macías, 2006), citan ciclos de cultivo similares al descrito para la instalación de Marbella o incluso más cortos (en torno al año de duración). En el periodo estudiado los mayores incrementos de talla se observaron entre julio y septiembre de 2007.

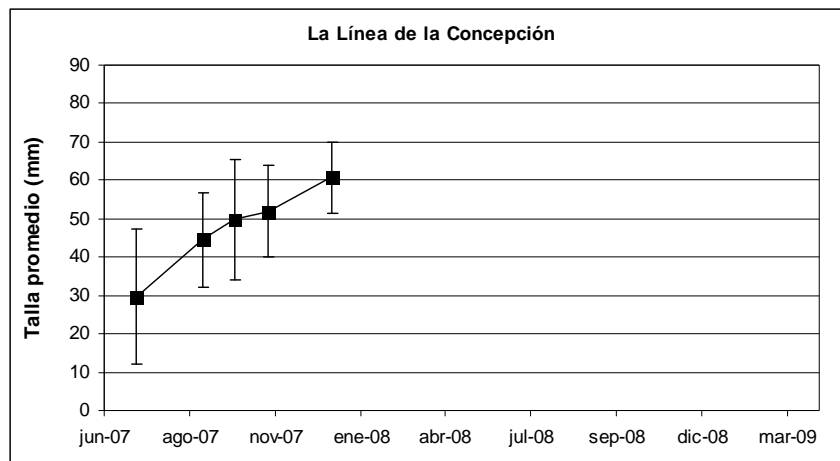


Figura 6.18 Evolución temporal del tamaño promedio de la longitud de concha en Marbella. Fuente: E.P. DAP

Tabla 6.6 Tamaño promedio en la instalación de La Línea de la Concepción

Mes	Longitud (mm)	Desviación	Individuos
jul-07	29,65	12,35	401
sep-07	44,54	15,71	298
oct-07	49,76	11,78	251
nov-07	51,98	9,28	199
Ene-08	60,71	12,72	101

La distribución de tallas mensual (Figuras 6.19, 6.20 y 6.21) revela una mayor homogeneidad en las longitudes correspondientes a las instalaciones de Caleta de Vélez y Marbella probablemente debido a la procedencia común de las mismas.

Sin embargo, la semilla estudiada en La Línea de la Concepción tiene su origen en el desdoble de cuerdas de un ciclo de cultivo anterior (año 2006). Esta circunstancia determina una mayor talla inicial y una elevada varianza asociada a la muestra de semilla.

Asimismo, en las tres instalaciones es posible observar un aumento de la dispersión de la talla de la semilla conforme avanza el seguimiento de la misma. Este hecho pone de manifiesto la fijación constante de semilla en las cuerdas estudiadas durante toda la experiencia. Esta circunstancia provoca una ligera disminución de la talla promedio así como un incremento de la varianza asociada.

Tal y como se recoge en el apartado 5.2.2, se han seguido varias estrategias para eliminar dicho efecto y obtener tamaños promedios representativos del crecimiento real observado en cada instalación.

Una vez finalizado el primer ciclo de crecimiento estudiado se tomaron muestras para el seguimiento de un segundo ciclo en las tres instalaciones. Sin embargo, diversas razones (actuaciones de laboreo, depredación, temporales) han impedido el correcto seguimiento de las poblaciones cultivadas en una segunda fase. Esta circunstancia ha determinado que el número de observaciones, de apenas dos o tres meses, correspondientes al segundo ciclo de cultivo sea insuficiente, por lo que finalmente se ha optado por no incluirlos en los resultados.

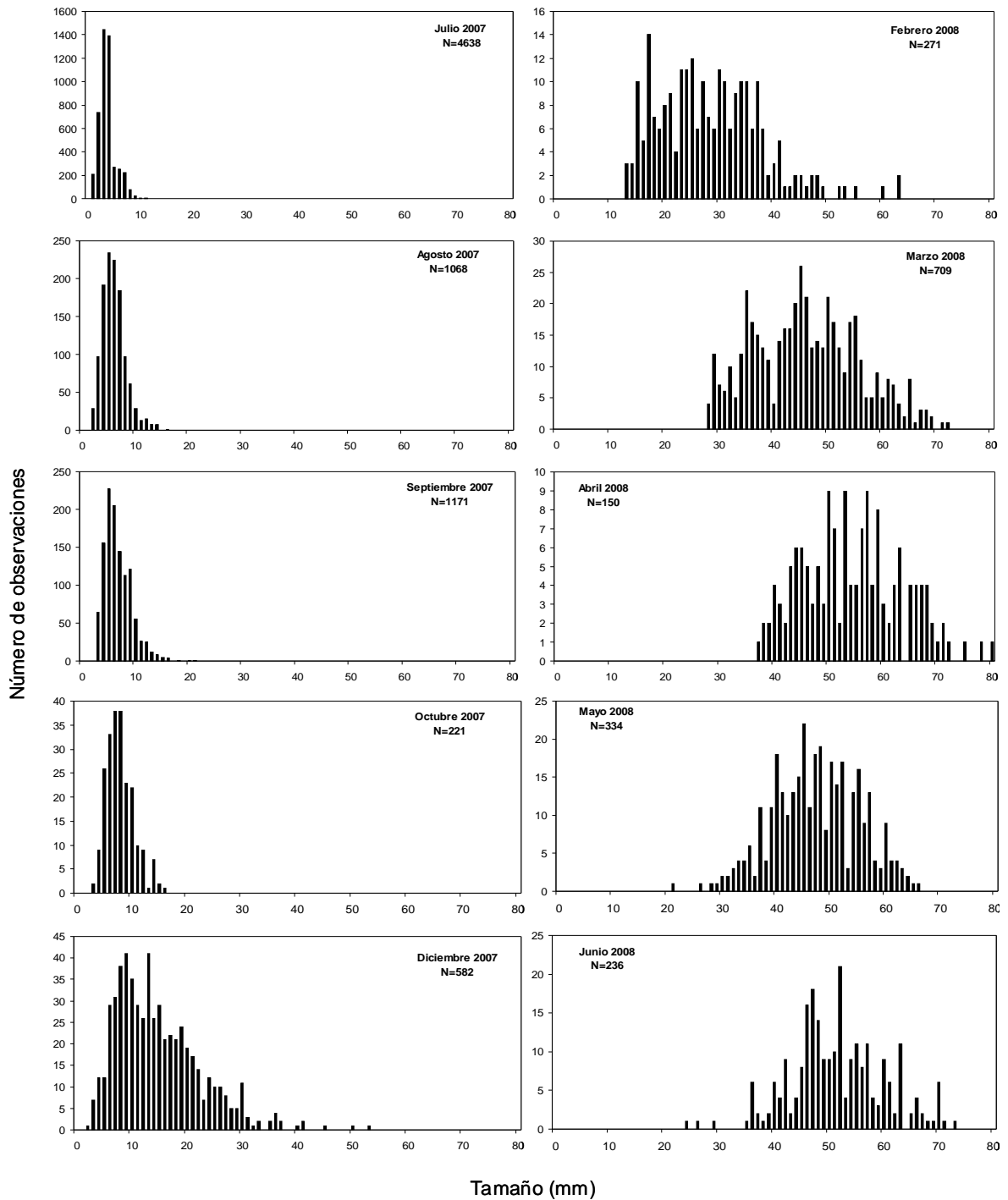


Figura 6.19a Distribución de tallas correspondiente al primer ciclo de cultivo en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP



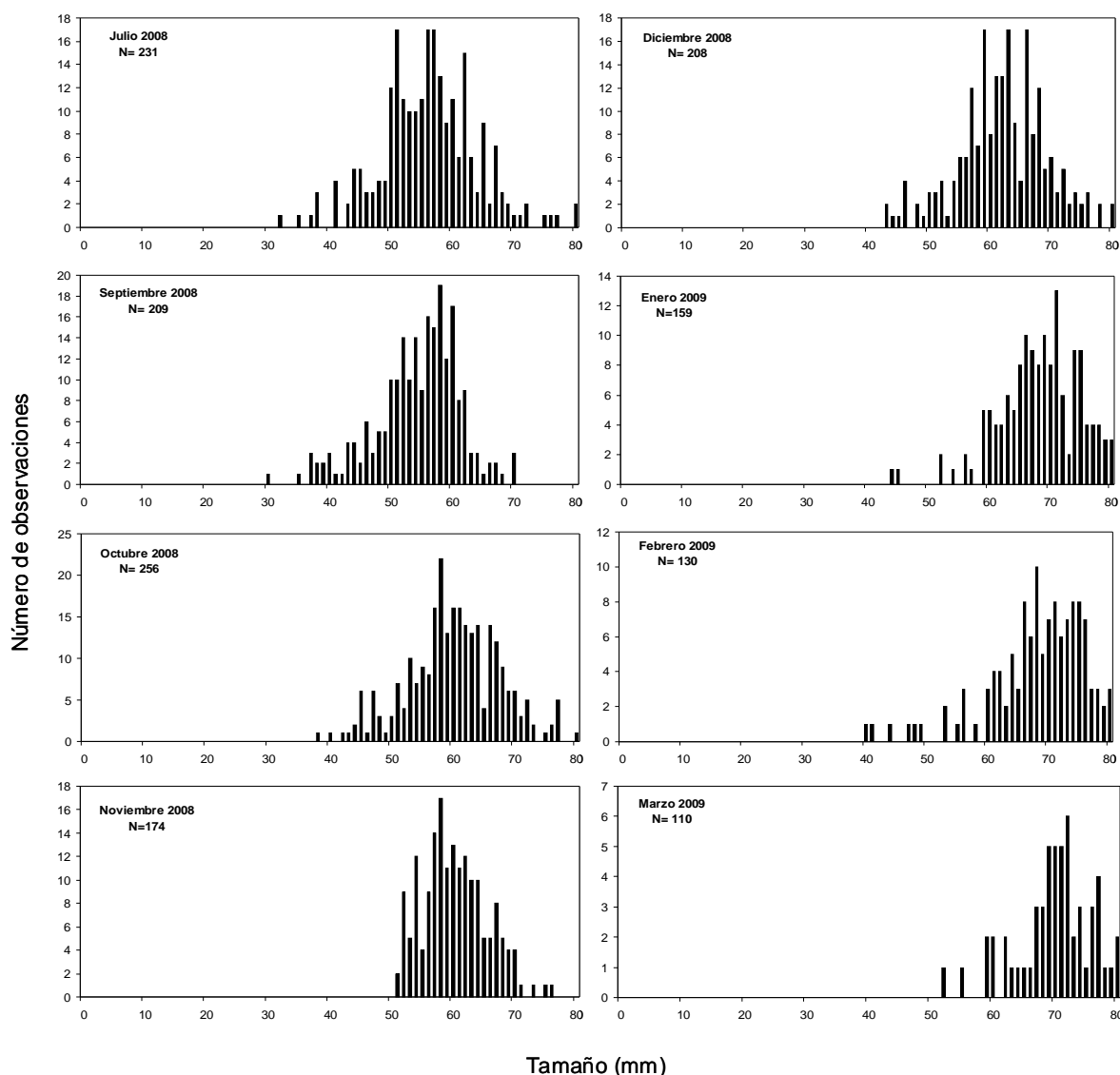


Figura 6.19b Distribución de tallas correspondiente al primer ciclo de cultivo en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

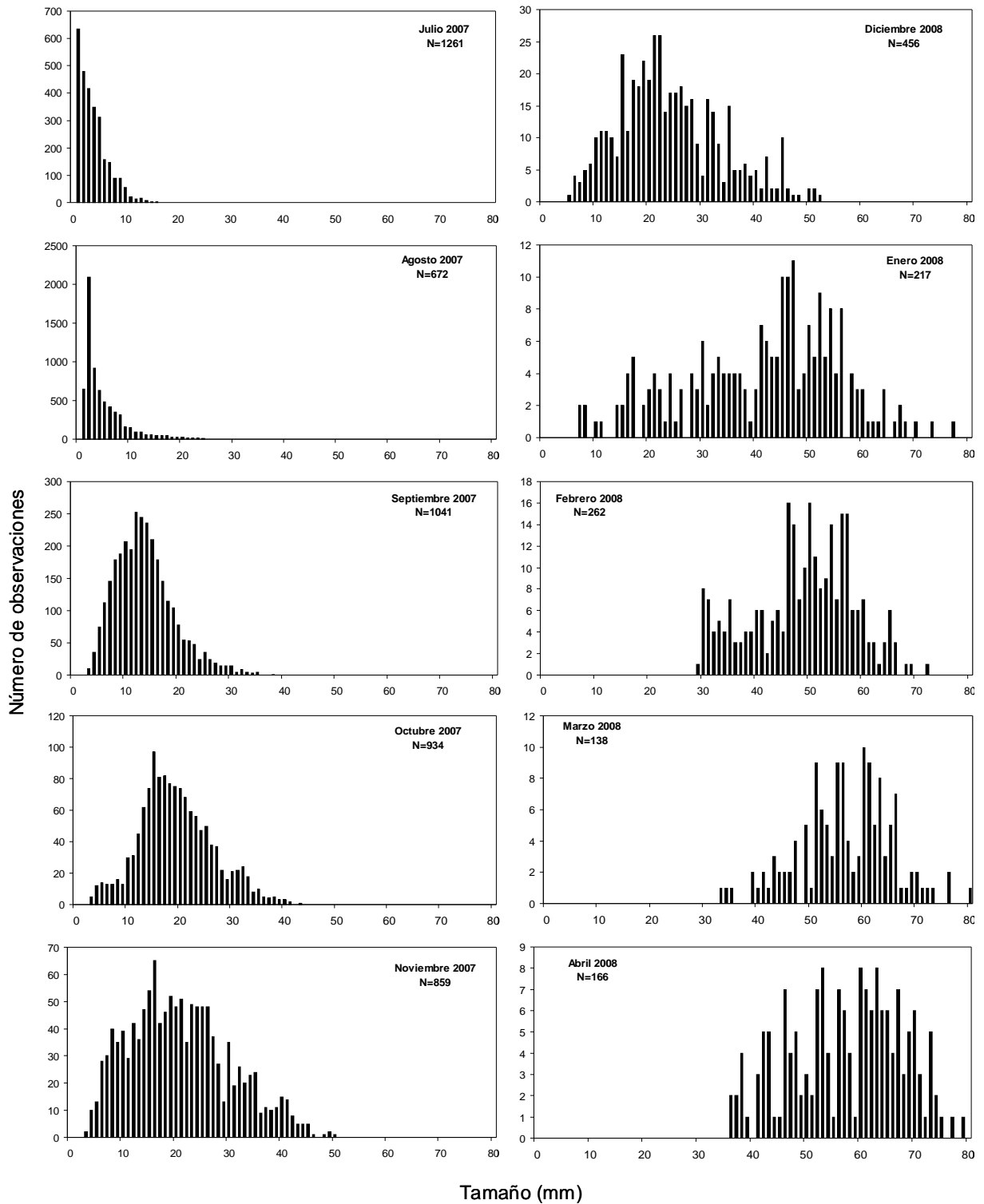


Figura 6.20a Distribución de tallas correspondiente al primer ciclo de cultivo en Marbella. Fuente: E.P. DAP

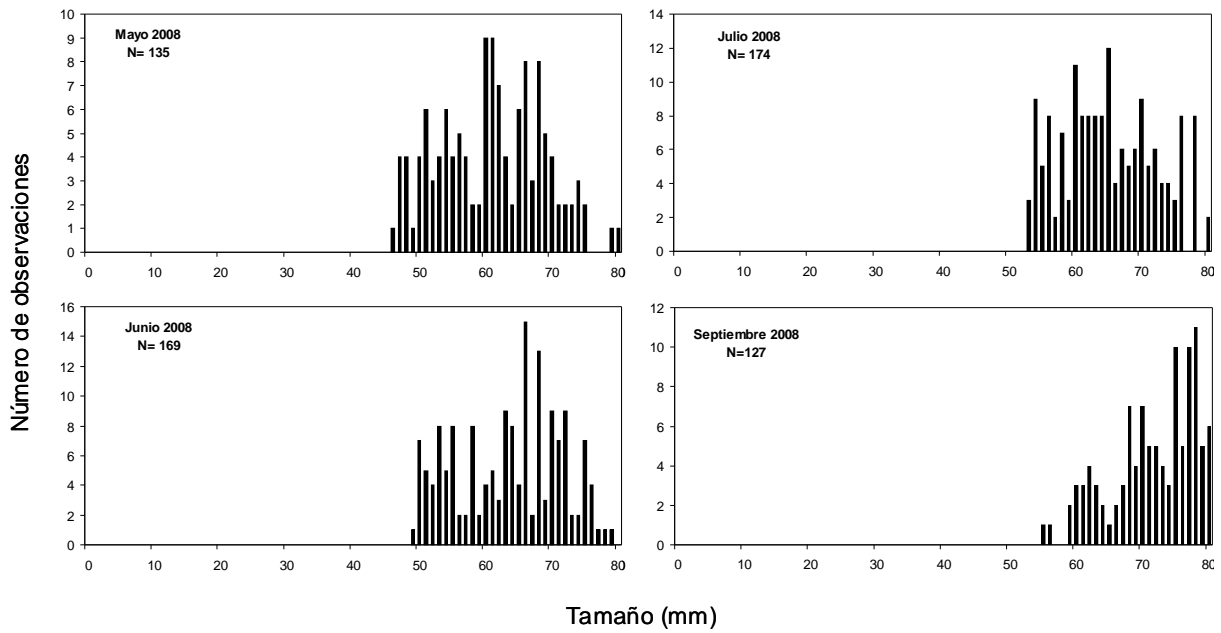


Figura 6.20b Distribución de tallas correspondiente al primer ciclo de cultivo en Marbella. Fuente: E.P. DAP

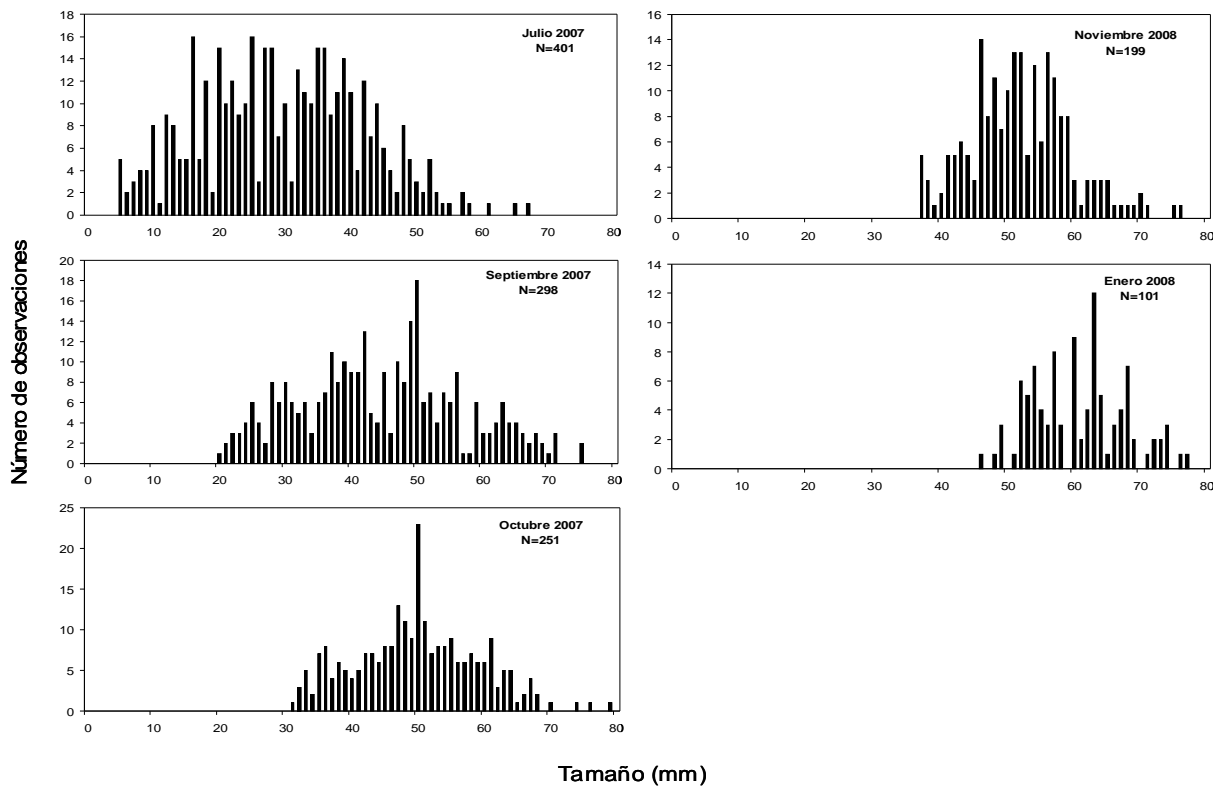


Figura 6.21 Distribución de tallas correspondiente al primer ciclo de cultivo en La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP

El estudio del crecimiento del mejillón cultivado pone de manifiesto un claro patrón estacional, con incrementos de tamaño más importantes durante los meses invernales y menores en la época estival.

Este patrón parece estar fuertemente relacionado con factores ambientales, especialmente la temperatura (Page & Hubbard, 1987) y la disponibilidad de alimento (Héral et al., 1989), que depende a su vez de la cantidad de clorofila y de la corriente presente (Fréchette et al., 1989). La influencia de estos factores sobre el crecimiento de la semilla de mejillón en el litoral mediterráneo andaluz es puesta de manifiesto por la relación significativa obtenida entre la temperatura y la concentración de clorofila con la distribución de talla así como con las tasas de crecimiento observadas en Caleta de Vélez. Estas relaciones establecen mayores tasas de crecimiento con aguas frías y ricas en fitoplancton, mientras que en condiciones de estratificación vertical (verano) disminuyen notablemente.

El crecimiento de los bivalvos suele mostrar un comportamiento exponencial en sus primeras fases de desarrollo (Stirling & Okumus, 1995), para disminuir posteriormente al alcanzar tallas mayores, como consecuencia de una mayor inversión en estructuras reproductoras. Este patrón determina que bajas condiciones favorables (bajas temperaturas y altas concentraciones de fitoplancton) se produzca un rápido incremento del tamaño de la semilla en los primeros meses de cultivo.

Esta circunstancia podría explicar la diferencia observada en la talla inicial de la semilla en Marbella y Caleta de Vélez. A diferencia de la primera, en esta última el periodo entre la fijación y el inicio del seguimiento se caracterizó por la presencia de aguas frías y ricas en fitoplancton. Durante el resto del verano las elevadas temperaturas y la menor disponibilidad de alimento pudieron determinar tasas de crecimiento menores.

Posteriormente, en otoño se produce un descenso de la temperatura acompañado de un enriquecimiento de las capas superiores por los procesos de mezcla. En estas circunstancias se observa un aumento de las tasas de crecimiento que continúa hasta alcanzar sus valores más elevados en invierno. En estas condiciones se produce un acusado incremento de la talla del mejillón. En la primavera este crecimiento continúa pero de manera más lenta, con tasas claramente menores, que disminuyen hasta el verano con el calentamiento de la masa de agua y la limitación de nutrientes (y por tanto de fitoplancton).

Si bien este patrón estacional es observable en Caleta de Vélez y Marbella, diversos factores determinan alteraciones del mismo. Los registros obtenidos ponen de manifiesto el impacto del ciclo biológico sobre el crecimiento del mejillón en primavera. Tal y como sugieren experiencias previas (Tirado & Macías, 2006), así como los datos de fijación obtenidos (ver apartado 6.4), en esta época se produce la liberación de gametos al medio. La inversión energética por parte de los individuos en estructuras reproductoras influye notablemente en una menor inversión energética en crecimiento.

Este hecho podría explicar las tasas de crecimiento tan bajas observadas en abril de 2008 en Marbella. Adicionalmente, hay que considerar la talla de los individuos y su edad. Si bien en sus primeras fases de desarrollo los individuos mostraron tasas más elevadas, a partir de los 4-5 cm de tamaño las tasas fueron menores.

Sin embargo, la presencia de los afloramientos costeros es probablemente el factor que provoca mayores alteraciones en el patrón estacional descrito anteriormente. La importancia de estos procesos en el establecimiento de condiciones favorables para el crecimiento del mejillón es un fenómeno conocido (Figueiras et al., 2002).



En la costa mediterránea andaluza su influencia varía desde la zona más occidental a la franja más oriental (Sharhan et al., 2000; Reul et al., 2005).

La cercanía al Estrecho de Gibraltar determina una mayor presencia de estos procesos, mientras que en la zona más mediterránea su influencia varía según la corriente predominante desde unos pocos días a varias semanas. En este último caso, los vientos de poniente juegan un importante papel, bien provocando la intensificación del afloramiento, bien aumentando su expansión a zonas más orientales de la costa.

Su impacto es claramente observable en los registros obtenidos, determinando tasas de crecimiento elevadas en épocas donde las condiciones son habitualmente más desfavorables (verano). Este aspecto es de gran interés para los productores, ya que determina que las condiciones ambientales durante la época estival no sólo no supongan un peligro para la supervivencia del mejillón, sino que incluso sean favorables para el crecimiento en esta época.

Si bien el patrón estacional descrito es común a las instalaciones analizadas, este presenta una marcada variabilidad geográfica en el litoral mediterráneo andaluz, con ciclos de cultivos más cortos en la parte occidental de la región y tasas de crecimiento (en general) más bajas en la franja oriental.

La influencia de las variables ambientales sobre el crecimiento determina que este sea diferente en aquellas zonas con una características atlánticas (La Línea de la Concepción y Marbella), es decir aguas más frías y ricas en fitoplancton, y mediterráneas (Caleta de Vélez), con aguas más templadas y pobres (Sharhan et al., 2000; Reul et al., 2005).

Las condiciones de temperatura y disponibilidad de alimento, factor más influyente en el crecimiento en aguas templadas, son más favorables en las primeras por lo que el crecimiento es mayor y más continuado, determinando ciclos de cultivo más cortos (Figura 6.22). Esta circunstancia podría explicar la ausencia de relación estadística entre la temperatura y la concentración de clorofila en el crecimiento en la instalación de Marbella, ya que las condiciones son más estables durante todo el ciclo de cultivo. Así, es en aquellas áreas (como Caleta de Vélez) donde las fluctuaciones de temperatura y clorofila son más marcadas, en las que estos factores juegan un papel más importante (Babarro et al., 2000) y la relación de estas con el crecimiento es más clara y el impacto de los afloramientos es más notable.

La comparación del patrón de crecimiento observado con el descrito en otras zonas de producción como Galicia o el Delta del Ebro pone de manifiesto importantes diferencias, tanto en la duración de los ciclos de cultivo como en los factores que determinan un mayor impacto sobre los mismos.

Los resultados obtenidos revelan tasas de crecimiento máximas de 12.92 mm/mes en Marbella y 21.22 mm/mes en Caleta de Vélez, es decir, significativamente más elevadas que las descritas en Galicia, entre 9.1 mm/mes (Babarro et al., 2000) 11.1 mm/mes (Camacho et al., 1995), y en Cataluña, con valores de hasta 5.5 mm/mes (Ramón et al., 2007). Este hecho determina ciclos de cultivos en torno a 10-12 meses (Tirado & Macías, 2006) en La Línea de la Concepción y 14 meses en Marbella, lo que supone una importante disminución con respecto a la duración media descrita en Galicia, de aproximadamente 16-18 meses (Aguirre, 1979; Pérez & Román, 1979; Villalba, 1997), más acordes sin embargo con el ciclo observado en Caleta de Vélez. Por lo tanto, la región más occidental de la franja mediterránea andaluza parece más adecuada para el cultivo que la zona más oriental.

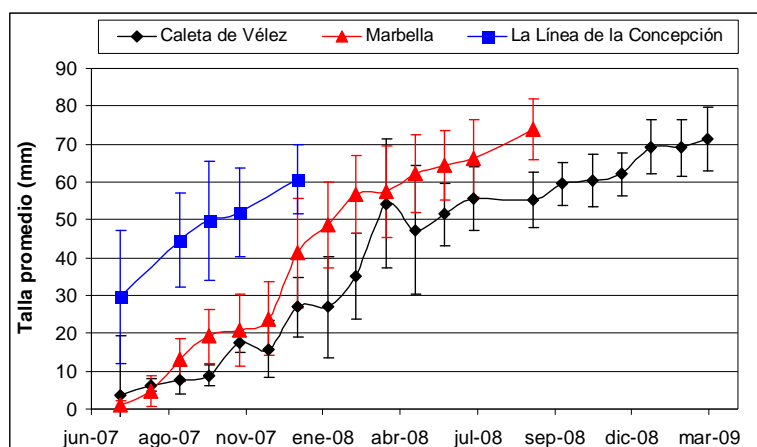


Figura 6.22 Evolución temporal del tamaño promedio de la longitud de concha.  
Fuente: E.P. DAP

Al igual que en la región gallega (Pérez Camacho et al., 1995; Babarro et al., 2000), la concentración de clorofila es el factor más determinante en el crecimiento del mejillón en las instalaciones andaluzas. Esta situación contrasta con la descrita por Ramón et al. (2007) en el Delta del Ebro, donde el patrón estacional no está relacionado con el patrón de producción primaria.

Nuestros registros ponen además de manifiesto, al igual que los de Babarro et al. (2000) en la Ría de Arousa, una importante influencia de la temperatura en el patrón de crecimiento; especialmente en Caleta de Vélez, donde existe una relación directa con la talla de la semilla. Si bien el patrón estacional observado en Andalucía depende de factores similares, los intervalos de crecimiento son claramente distintos a los descritos en otras zonas de producción. En las instalaciones andaluzas es mayor en invierno y menor en verano, mientras que el crecimiento en el Delta del Ebro y Galicia es mayor en primavera y menor en invierno.

Las condiciones de crecimiento observadas en Andalucía son diferentes por tanto a las descritas en otras zonas de producción de nuestro entorno. Si bien cabía esperar un crecimiento menor al observado en zonas tan productivas como las rías gallegas, las condiciones ambientales en el Mediterráneo occidental andaluz constituyen un marco adecuado para el desarrollo de estos bivalvos, que determinan incluso ciclos de cultivos más cortos que en Galicia, así como la posibilidad de producción en épocas alternativas a las del resto de zonas.

### 6.2.1. Índices de condición (IC).

Al igual que en el crecimiento de la semilla, la evolución temporal de los IC pone de manifiesto un patrón estacional en las tres instalaciones estudiadas, en tanto en cuanto los valores más elevados se corresponden con los meses de otoño-invierno y los menores con los meses de primavera y verano (Figura 6.23; Tablas 6.7, 6.8, y 6.9).

En Caleta de Vélez, la experiencia comienza con una disminución de los IC en verano que continúa hasta el otoño de 2007. En esta época sus valores aumentan progresivamente hasta que en la primavera de 2008 se produce un nuevo descenso que continúa hasta finales de verano, para aumentar ligeramente en otoño de ese mismo año.

En Marbella su evolución presenta rendimientos mayores en invierno y primavera de 2008, aunque con un patrón más heterogéneo, donde la estacionalidad anterior no es tan clara. En esta instalación cabe destacar dos claros descensos de los IC ocurridos a comienzos de noviembre de 2007 y mediados de mayo de 2008, siendo este último más acusado.

En La Línea de la Concepción el comportamiento de los IC es más heterogéneo aún, mostrando diferencias entre los veranos de 2007 y 2008, cuando se dieron los valores más elevados. Al igual que en Marbella se observan importantes valles en la evolución de los IC, con descensos en primavera y verano de 2008, así como en el otoño de 2007 y 2008.

De nuevo este patrón está relacionado con la variación estacional de las variables ambientales, ya que los índices de condición son fuertemente dependientes de la temperatura del agua y la disponibilidad de alimento. Este aspecto es claramente observable en la instalación de Caleta de Vélez, donde los IC presentan una correlación significativa ( $P < 0.05$ ) con la temperatura y la concentración de clorofila, de manera que los valores más elevados se encuentran asociados a bajas temperaturas y altos niveles de fitoplancton.

En el resto de instalaciones, si bien se observa una relación con las variables ambientales, esta no es estadísticamente significativa. La dependencia de estos factores determina a su vez excepciones al patrón descrito anteriormente, con valores de IC elevados en verano en las tres instalaciones asociados a afloramientos, especialmente en las más occidentales.

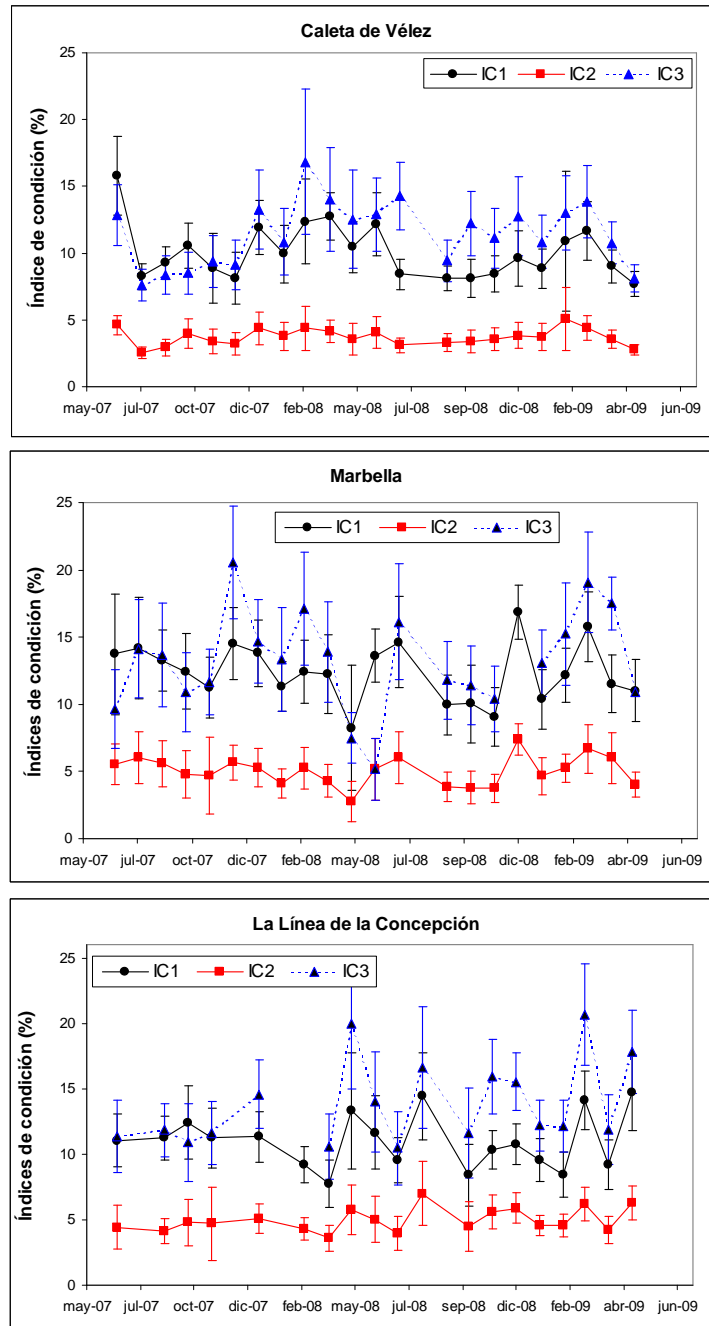


Figura 6.23 Evolución temporal de los índices de condición. Fuente: E.P. DAP



**Tabla 6.7** Índices de condición en la instalación de Caleta de Vélez

Mes	IC1	IC2	IC3
May-07	19,89		
Jul-07	15,80	4,62	12,85
Ago-07	8,26	2,53	7,57
Sep-07	9,28	2,93	8,36
Oct-07	10,56	3,98	8,51
Nov-07	8,85	3,36	9,36
Dic-07	8,10	3,21	9,12
Ene-08	11,90	4,37	13,26
Feb-08	9,93	3,78	10,82
Mar-08	12,17	4,28	16,83
Abr-08	12,74	4,12	14,00
May-08	10,44	3,54	12,51
Jun-08	12,15	4,07	12,88
Jul-08	8,43	3,09	14,27
Sep-08	8,13	3,28	9,43
Oct-08	8,13	3,41	12,23
Nov-08	8,44	3,57	11,11
Dic-08	9,59	3,84	12,72
Ene-09	8,85	3,69	10,83
Feb-09	9,63	4,57	13,00
Mar-09	11,66	4,41	13,83
Abr-09	9,01	3,53	10,74
May-09	7,71	2,75	8,11

Las evoluciones observadas muestran también claras diferencias entre las instalaciones, tanto en la evolución temporal de los mismos como en los valores obtenidos, probablemente como consecuencia del gradiente geográfico de las variables oceanográficas.

Así, los IC obtenidos en Caleta de Vélez fueron significativamente ( $P < 0.001$ ) menores a los registrados en Marbella y La Línea de la Concepción. Los valores promedio ponen de manifiesto un gradiente Oeste-Este, con IC más elevados en La Línea de la Concepción, Marbella y Caleta de Vélez respectivamente.

El rendimiento en carne mostró valores máximos más elevados (Tablas 6.7, 6.8, y 6.9) en las dos instalaciones más occidentales, donde alcanzaron valores en torno al 20% en mayo de 2008 y diciembre de 2007 respectivamente. En Caleta de Vélez el IC3 no sobrepasó el 16% (Marzo 2008).

Los cambios estacionales en los índices de condición y en el rendimiento en carne de los bivalvos son el resultado de la compleja interacción de una variedad de factores, incluyendo la temperatura (Hickman & Illingworth, 1980), la disponibilidad alimento (Smaal and van Stralen, 1990), la salinidad, y el ciclo gametogénico de los animales.

La influencia de las variables ambientales determina valores más elevados a bajas temperaturas y con abundancia de fitoplancton. En nuestra zona de estudio, estas condiciones son más frecuentes (ver apartado 6.1.2) en aquellas instalaciones con mayor influencia atlántica, tales como La Línea de la Concepción y Marbella. Los resultados, obtenidos, con IC y rendimientos más elevados en las estaciones más occidentales, son coherentes con dicho patrón geográfico.

**Tabla 6.8** Índices de condición en la instalación de Marbella

Mes	IC1	IC2	IC3
jul-07	13,73	5,53	9,66
Ago-07	14,19	6,05	14,13
Sep-07	13,26	5,59	13,68
Oct-07	12,44	4,80	10,91
Nov-07	11,24	4,69	11,64
Dic-07	14,52	5,67	20,54
Ene-08	13,82	5,29	14,66
Feb-08	11,31	4,10	13,35
Mar-08	12,40	5,26	17,10
Abr-08	12,25	4,32	13,89
May-08	8,24	2,75	7,48
Jun-08	13,62	5,18	5,18
jul-08	14,62	6,05	16,14
Sep-08	9,95	3,86	11,79
Oct-08	10,03	3,82	11,40
Nov-08	9,06	3,75	10,42
Dic-08	16,87	7,35	
Ene-09	10,39	4,66	13,05
Feb-09	12,16	5,26	15,23
Mar-09	15,77	6,69	19,07
Abr-09	11,53	6,01	17,50
May-09	11,02	4,01	10,91

La incidencia de los afloramientos costeros juegan además un importante papel en el establecimiento de condiciones favorables incluso en la época estival, determinando valores elevados (Tablas 6.7, 6.8, y 6.9) en los meses de julio o agosto, incluso (bajo vientos de poniente) en zonas como Caleta de Vélez donde la dependencia de la temperatura y la disponibilidad de alimento es mayor.

Este aspecto es de especial interés para los productores en nuestra región, ya que supone la posibilidad de explotar el recurso en una época donde a priori las condiciones ambientales podría suponerse como adversas para la venta del producto. De hecho, a lo largo del proyecto se ha podido constatar como en verano, especialmente en las instalaciones de La Línea de la Concepción y Marbella, se producían ventas significativas de la producción.

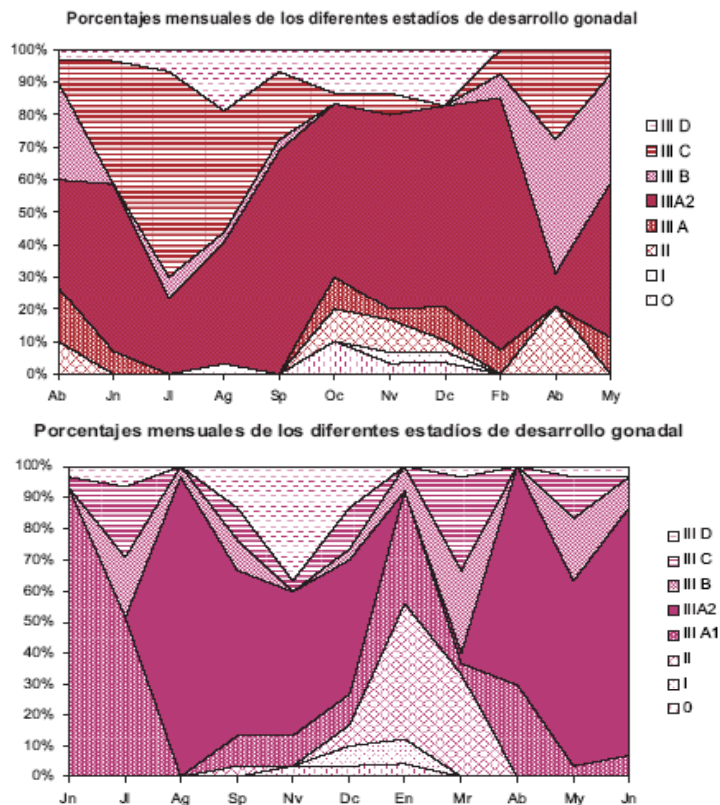
**Tabla 6.9** Índices de condición en la instalación de La Línea de la Concepción

Mes	IC1	IC2	IC3
May-07	12,89		
jul-07	11,03	4,43	11,35
Ago-07	11,26	4,17	11,84
Sep-07	9,77	3,82	9,56
Oct-07	11,31	6,46	11,78
Nov-07	11,24	4,67	10,11
Dic-07	9,04	3,82	9,98
Ene-08	9,41	4,41	11,95
Feb-08	11,34	5,11	14,58
Mar-08	9,21	4,33	16,39
Abr-08	7,75	3,61	10,53
May-08	13,33	5,77	19,97
Jun-08	11,66	5,00	14,00
jul-08	9,56	3,94	10,48
Sep-08	14,43	7,01	16,65
Oct-08	8,41	4,48	11,63
Nov-08	10,33	5,60	15,92
Dic-08	10,77	5,89	15,51
Ene-09	9,57	4,56	12,19
Feb-09	8,43	4,57	12,13
Mar-09	14,11	6,21	20,66
Abr-09	9,20	4,20	11,89
May-09	14,70	6,29	17,80

Los IC y en especial el rendimiento en carne del mejillón siguen tradicionalmente una evolución estrechamente asociada al ciclo reproductivo (Aguirre, 1979). En relación al estado fisiológico de las poblaciones es necesario destacar los fuertes descensos observados en los valores de los IC en primavera y otoño en La Línea de la Concepción y Marbella.

Estas disminuciones podrían ser consecuencia de periodos de puestas. Esta circunstancia es coherente con el patrón general descrito en la mayoría de estudios realizados sobre la reproducción del mejillón, que describen una puesta principal en primavera (Villalba, 1993, 1995) y otra menor en otoño (Andreu, 1958; Aguirre, 1979). Si bien en nuestro estudio no se han analizado los diferentes estadios de desarrollo gonadal, necesarios para conocer los ciclos gametogénicos de la población cultivada, la evolución de los IC1 e IC2 parece consecuente con los ciclos observados por Tirado & Macías (2006) (Figura 6.24) en estas dos instalaciones.

Sus resultados en La Línea de la Concepción muestran la existencia de individuos con signos de liberación de gametos todo el año, así como dos periodos principales de puesta en primavera y verano, y uno de regresión gonadal en otoño. Este patrón es coherente con los descritos por Ferrán y col. (1990) y Villalba (1993) en las Rías Gallegas y con la evolución de los IC obtenidos en nuestro estudio durante 2008, con claros descensos en primavera, verano y otoño. En todos los casos, dichos descensos aparecen asociados a incrementos de la temperatura, principal factor desencadenante de la liberación de gametos (Crăciun, 1980).



**Figura 6.24** Estados de desarrollo gonadal de los ejemplares de *M. galloprovincialis* cultivados en Marbella (arriba) y La Línea de la Concepción (abajo). **Fuente:** E.P. DAP (Tirado & Macías, 2006)

En Marbella se describen dos periodos de puesta, correspondientes a los meses de primavera y verano, siendo más intensos en el primer caso. Nuestros datos reflejan una acusada disminución de los IC en primavera de 2008, aunque no en verano de ese mismo año. Los periodos de puesta aquí descritos coinciden con los patrones temporales de fijación de semilla detectados en la zona (ver apartado 6.4).

En Caleta de Vélez sin embargo, la identificación de los patrones descritos anteriormente no es tan clara. Los IC presentan valores menores en primavera y verano, que podrían indicar periodos de puesta (no se dispone de los ciclos de desarrollo gonadal en esta zona), pero que en cualquier caso no son tan acusados como en las instalaciones de La Línea de la Concepción y Marbella.

La evolución de los índices de condición suele presentar marcadas diferencias de un año para otro y entre las zonas de producción. Nuestros resultados muestran un patrón estacional, con IC mayores en invierno-otoño y menores en primavera-verano, asociado a la temperatura y la clorofila. Estos resultados contrastan con los descritos por Pérez y Román (1979) en la Ría de Arousa, donde se establecen periodos más bajos a comienzos de primavera y máximos en verano y otoño. Sus resultados son similares a los observados en zonas de producción escocesas (Okumus & Stirling, 1998).

Nuestros datos, ponen por tanto de manifiesto patrones estacionales diferentes a los existentes en otras zonas de producción, probablemente como consecuencia de la situación más meridional de la costa mediterránea andaluza y por tanto del mayor impacto de la temperatura en época estival.

Los valores obtenidos muestran rendimientos máximos en torno al 20%, con promedios anuales entre el 14% (La Línea de la Concepción) y el 11% (Caleta de Vélez) del peso total de los individuos. Estos son menores que los descritos en experiencias previas llevadas a cabo en las mismas instalaciones (Tirado & Macías, 2006). Esta circunstancia se debe probablemente a las diferencias metodológicas entre aquel estudio y la experiencia descrita en este informe, ya que en este último caso se ha realizado un hervido previo de los individuos antes de determinar su peso vivo. Estos autores describen rendimientos más elevados en la Línea de la Concepción, especialmente en primavera y verano, durante los cuales se produjo un intenso y prolongado afloramiento costero (Informes 2003 y 2004 de Control y seguimiento de las condiciones sanitarias en las zonas de producción).

En cualquier caso los resultados obtenidos por Tirado & Macías (2006) ponen de manifiesto la elevada variabilidad temporal en estas instalaciones (a diferencia de nuestras observaciones en Caleta de Vélez), con ciclos que no son iguales en años sucesivos, como consecuencia de la variación de las condiciones ambientales en estas zonas (mucho más estables en Caleta de Vélez).

Si bien no disponemos de datos referentes a los rendimientos observados en otras zonas de producción españolas, el contacto con los productores parece indicar que los rendimientos obtenidos en Andalucía son ligeramente menores que los observados en Galicia. En cualquier caso, las condiciones existentes en las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción determinan valores muy similares a aquellos, especialmente en épocas (invierno) en el que disminuye el rendimiento en dichas zonas. Por lo tanto el mejillón andaluz puede ser considerado un producto de calidad muy similar al de otras zonas, así como un recurso complementario, dadas las diferente estacionalidad de su rendimiento.

### 6.2.3. Relaciones alométricas y epifauna.

El análisis de los índices de condición es un aspecto de gran importancia para los productores ya que su evolución (por ejemplo del rendimiento) determina en gran medida su explotación y destino (venta en fresco o en conserva). Sin embargo, tradicionalmente se presta una menor atención a otros aspectos como las relaciones alométricas y la epifauna, con gran influencia sobre la calidad del producto, su rendimiento y posibilidades de venta.

Existen determinadas relaciones entre algunas características de los mejillones, tales como el volumen intervalvar, peso de las valvas o de la vianda, y su tamaño. En algunos casos, estas relaciones son bastantes constantes, si bien en otros presentan pequeñas diferencias que permiten comparar poblaciones en función de su rentabilidad.

Por otro lado, las cuerdas, una vez sumergidas, constituyen un sustrato para diferentes organismos que rápidamente las colonizan. En ellas encontramos habitualmente crustáceos, poliquetos, gasterópodos, lamelibranquios, esponjas, etc. El desarrollo de estas comunidades, principalmente detritívoros y depredadores, se ve favorecido por la baja capacidad de los mejillones para la asimilación del material filtrado, lo que resulta en una gran cantidad de material biodepositado y por tanto alimento para dicha epifauna (Pérez Camacho et al., 1991).

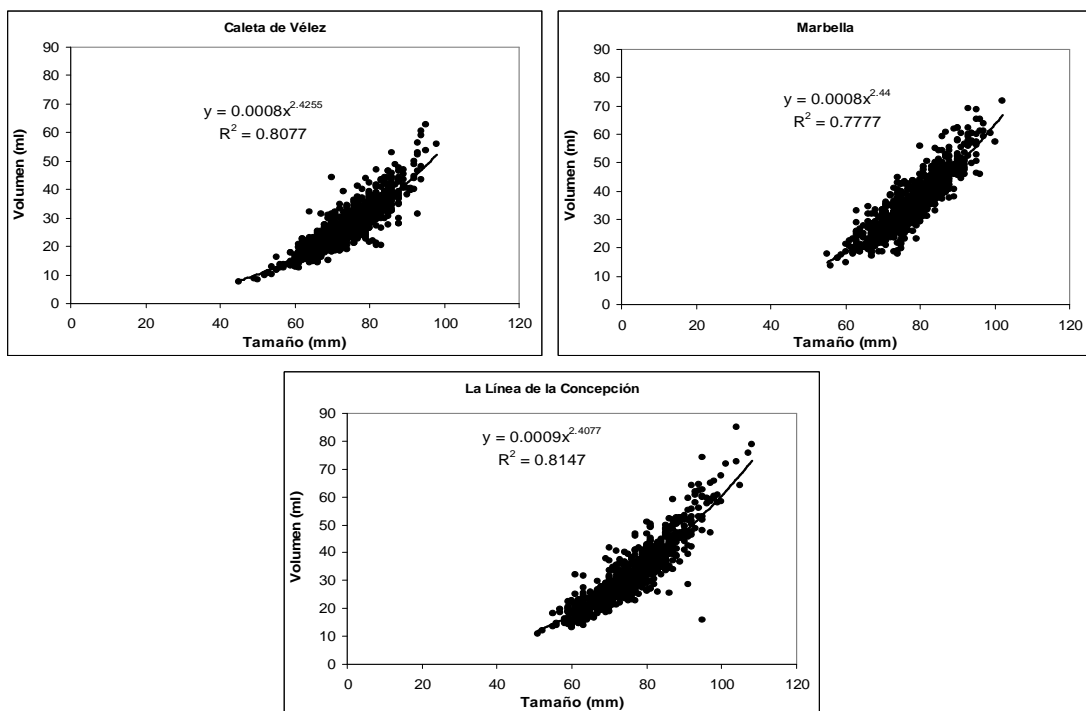


En la figura 6.25 se muestran las relaciones entre volumen y longitud de las valvas para cada una de las poblaciones estudiadas. En todos los casos ambos descriptores mostraron una relación significativa ( $P < 0.001$ ), con una gran constancia entre las pendientes. Si bien se observa un ligero desplazamiento hacia la izquierda en Caleta de Vélez, como consecuencia del menor tamaño de los individuos, estas relaciones ponen de manifiesto una gran homogeneidad en el patrón morfológico de los individuos de cada una de las instalaciones.

No ocurre lo mismo al relacionar el peso de las valvas y de las viandas con el tamaño de los mejillones (Figuras 6.26 y 6.27), ya que se observan claras diferencias entre las instalaciones, si bien en todos los casos se obtuvieron relaciones lineales significativas ( $P < 0.001$ ).

Una primera aproximación muestra pesos de valvas y viandas significativamente ( $P < 0.001$ ;  $\alpha = 0.05$ ) mayores en las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción, asociadas a individuos de mayor tamaño. Sin embargo, el análisis de las relaciones obtenidas pone de manifiesto valvas más pesadas y viandas más ligeras en la instalación de Caleta de Vélez.

Para individuos con un tamaño dado de 50 mm, en esta última zona se obtienen pesos de concha y vianda de 6.63 g y 0.28 g respectivamente, mientras que en Marbella se alcanzan valores de 2.5 g y 0.5 g, y en La Línea de la Concepción de 2.8 g y 0.33 g. Es decir para un mismo tamaño Marbella presenta conchas menos gruesas y un mayor rendimiento en viandas, mientras que en Caleta las valvas son un 37.5% más gruesas y las viandas un 43.2% más pequeñas. Por lo tanto nuestros datos sugieren un menor rendimiento de los mejillones cultivados en las zonas más mediterráneas, mientras que de nuevo las instalaciones con mayor influencia atlántica muestran valores más productivos.



**Figura 6.25** Relaciones entre el volumen intervalvar y el tamaño de *M. galloprovincialis* en las tres instalaciones estudiadas. Fuente: E.P. DAP

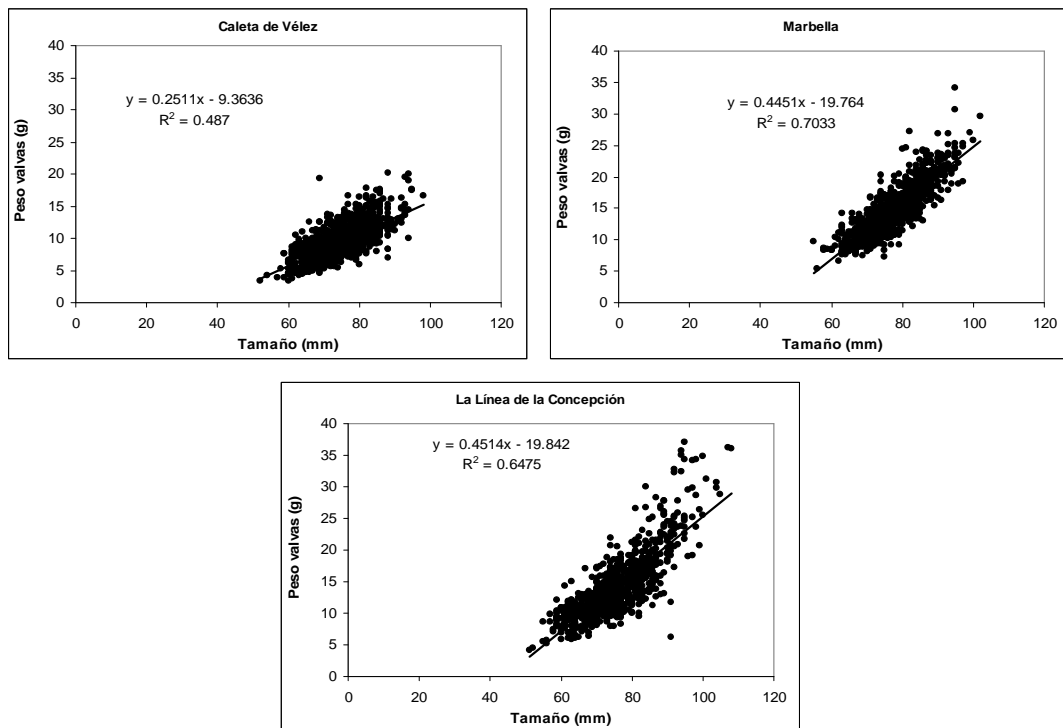


Figura 6.26 Relaciones entre el peso de las valvas y el tamaño de *M. galloprovincialis* en las tres instalaciones estudiadas. Fuente: E.P. DAP

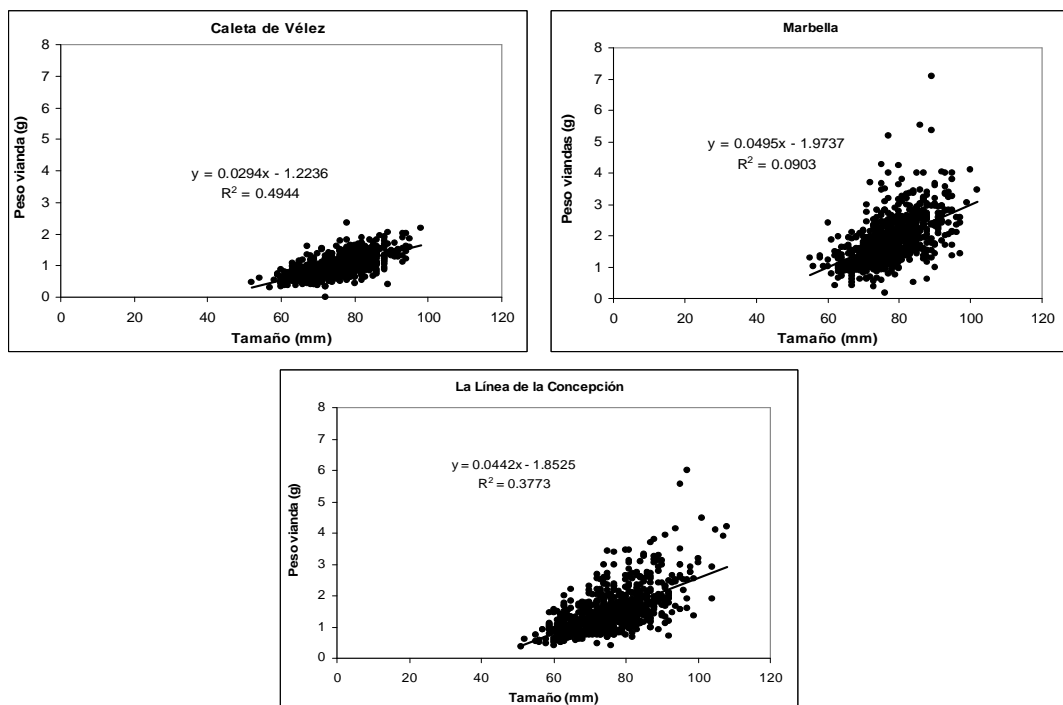


Figura 6.27 Relaciones entre el peso de las viandas (secas) y el tamaño de *M. galloprovincialis* en las tres instalaciones estudiadas. Fuente: E.P. DAP

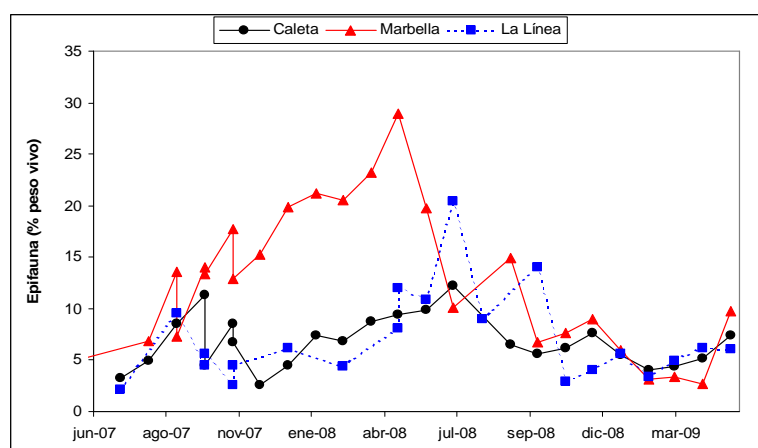
En la figura 6.28 se muestra el porcentaje de epifauna promedio y su evolución temporal en cada una de las instalaciones de cultivo. En ella se pone de manifiesto una mayor incidencia de la epifauna en la instalación de Marbella, seguida de la Línea de la Concepción y finalmente Caleta de Vélez.

Si bien en cada una de las instalaciones existen ligeras variaciones en la predominancia de los distintos grupos, en todas ellas la comunidad de epibiontes está compuesta por los mismos organismos, entre los que destacan *Balanus perforatus* y *B. Eburneus*. Estos crustáceos alcanzan grandes tallas en las instalaciones de Marbella y La Línea de la Concepción, donde sus cuerpos calcáreos suponen un importante porcentaje del peso total de los mejillones, especialmente en Marbella donde llegan a alcanzar valores del 29% del peso vivo de los individuos (Figura 6.28). Su importancia es en general menor en la instalación de Caleta de Vélez donde los porcentajes apenas alcanzan valores máximos del 12%, con valores promedio de 6.7%.

Los resultados obtenidos ponen por tanto de manifiesto porcentajes de epifauna notablemente mayores en Marbella y menores en Caleta de Vélez. En este análisis es necesario considerar la edad de los ejemplares analizados, ya que para una misma zona la epifauna será mayor en aquellos ejemplares más viejos.

Por otro lado, si bien el seguimiento se ha hecho siempre a partir de las mismas cuerdas, se observan pequeños descensos asociados a la variabilidad muestral. Otros cambios más importantes (por ejemplo, a partir de la primavera-verano de 2008) responden a las actividades de laboreo de la instalación (deshuble y extracción).

El patrón de incidencia observado viene probablemente determinado por las condiciones favorables que determina la existencia del afloramiento costero para el desarrollo de larvas de balanos principalmente en las dos instalaciones más occidentales. Asimismo, podría ser consecuencia de las zonas de distribución de estos organismos. La cercanía a la costa y al fondo parece ser menos relevante, ya que es precisamente en Caleta de Vélez donde se produce una menor incidencia de epibiontes, a pesar de ser la instalación más somera y cercana a la costa.



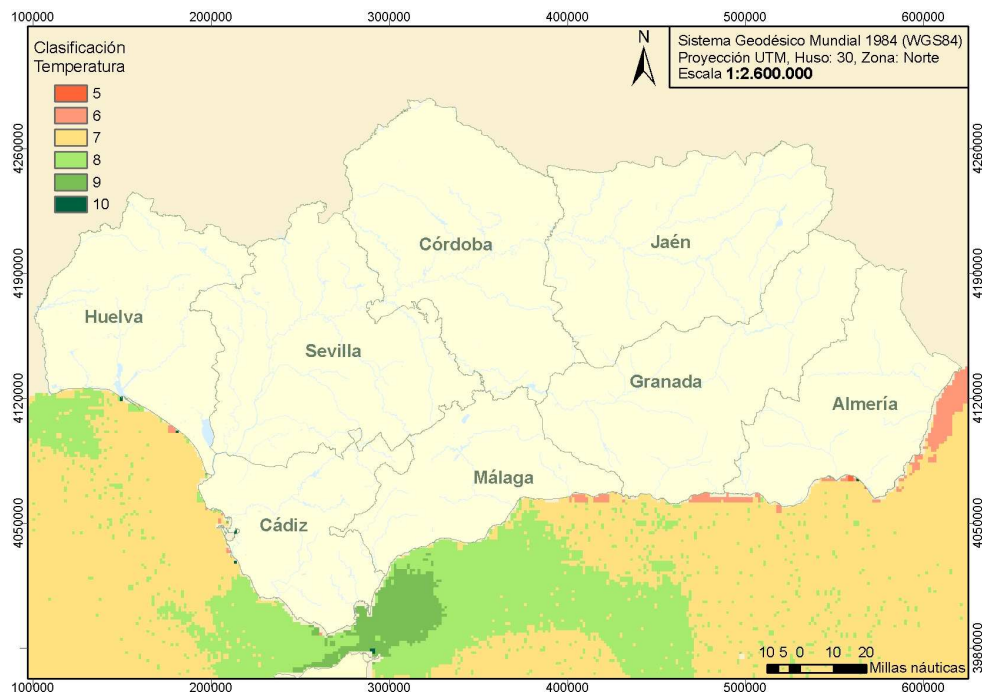
**Figura 6.28** Evolución temporal del porcentaje de epifauna en las valvas de mejillón para cada una de las instalaciones. Se han obviado las desviaciones para hacer el gráfico más claro. **Fuente:** E.P. DAP



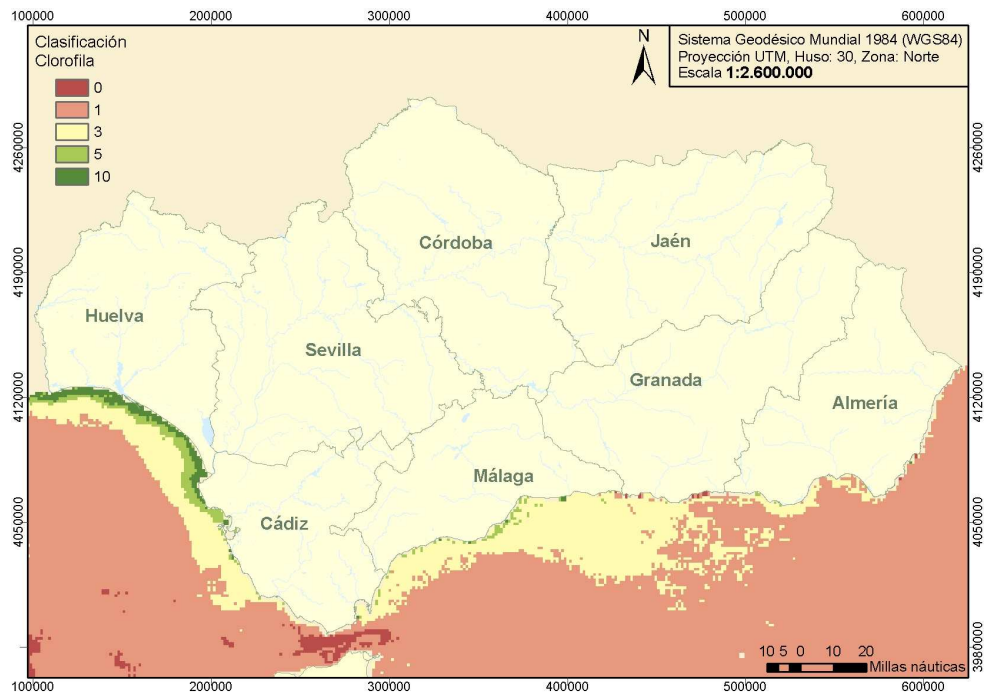
En cualquier caso, la fijación de epibiontes en el mejillón resulta de gran interés para los productores, ya que determina el aspecto y peso del producto final, incidiendo en sus posibilidades de venta. Si bien nuestros análisis puede interpretarse como una aproximación preliminar al problema, y no nos permite afirmar de manera concluyente la posible causa, parece que su incidencia es mayor en las instalaciones con mayor influencia atlántica, hasta el punto de que en Marbella los productores se han visto obligados en algunos casos a limpiar manualmente el producto antes de su venta.

### 6.3 Identificación y cartografiado de las zonas óptimas para el cultivo.

La cartografía resultante de analizar las distintas variables seleccionadas (temperatura, clorofila y profundidad) a partir de los rangos establecidos, se ha generado considerando la ponderación de temperatura y clorofila con un valor de un 40% cada una y valorando la batimetría en un 20%.



**Figura 6.29** Resultado de la clasificación de la temperatura superficial obtenida a partir de la media de las 12 imágenes mensuales clasificadas. **Fuente:** E.P. DAP



**Figura 6.30** Imagen resultante de la clasificación de los valores de clorofila medios del mes de marzo. Fuente: E.P. DAP



**Figura 6.31** Imagen resultante de la clasificación de la batimetría. Fuente: E.P. DAP

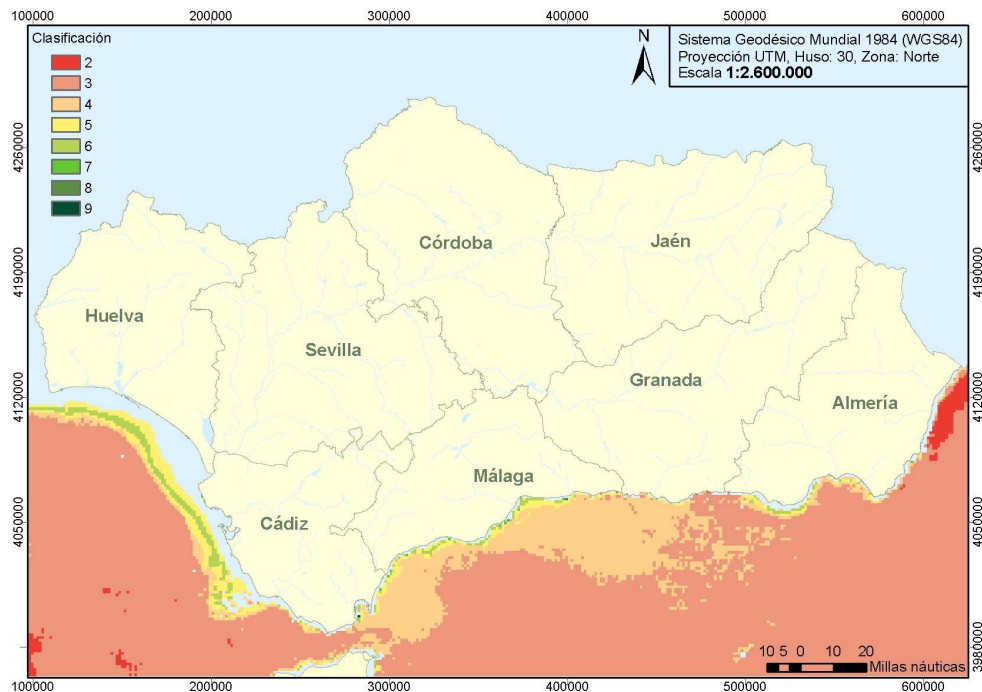


Figura 6.32 Imagen resultado tras realizar el cruce de las imágenes anteriores teniendo en cuenta la ponderación de cada una de ellas. Fuente: E.P. DAP

Además, con el objetivo de disponer de las zonas de interés cartografiadas en dos categorías (de interés medio y alto) estos rangos fueron reclasificados así:

2 - 3	Zonas Descartadas
4 - 5	Zonas Aptas
6 - 9	Zonas Óptimas

Finalmente se ha realizado una interpolación una nueva capa raster con un tamaño de píxel menor (100 metros), donde se observa como la batimetría tiene un comportamiento diferente a las otras variables consideradas al existir una franja en continuo durante toda la costa en que alcanza su valor óptimo para el cultivo según la clasificación realizada. De este modo, a pesar de su bajo factor de ponderación tiene una influencia clara en la zonificación.

Respecto a las otras dos variables es necesario considerar la existencia de una distribución menos homogénea. De esta forma, se observan valores óptimos principalmente en la zona atlántica, y en áreas concretas en el Mediterráneo y ocasionalmente en algunas áreas costeras de Granada y Almería.

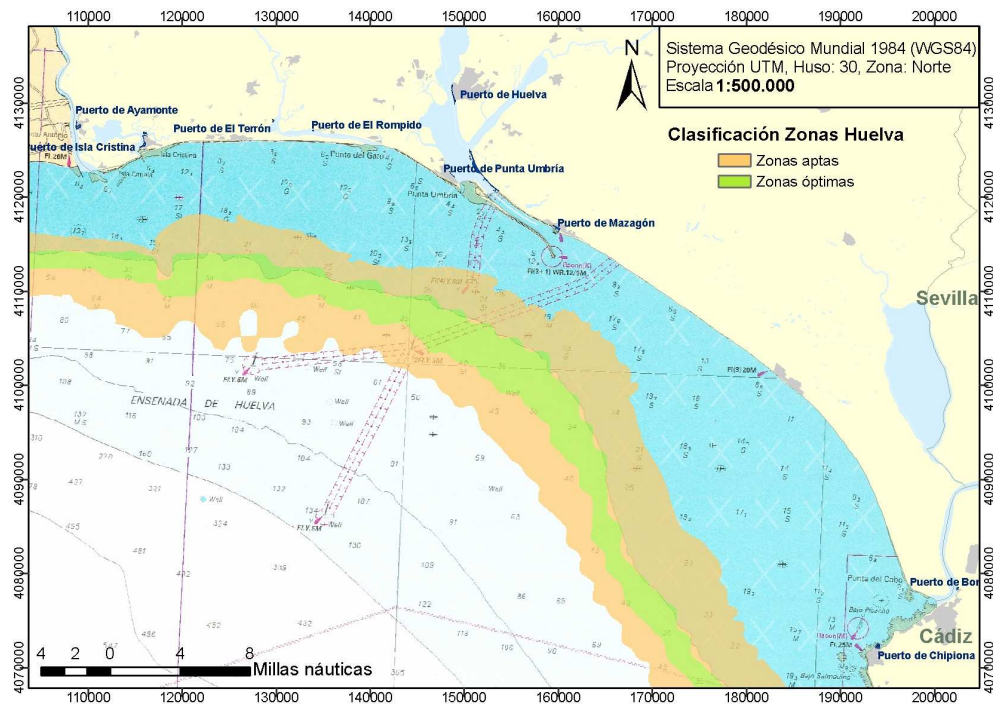


Figura 6.33 Representación de las zonas aptas y óptimas obtenidas en la provincia de Huelva. Fuente: E.P. DAP

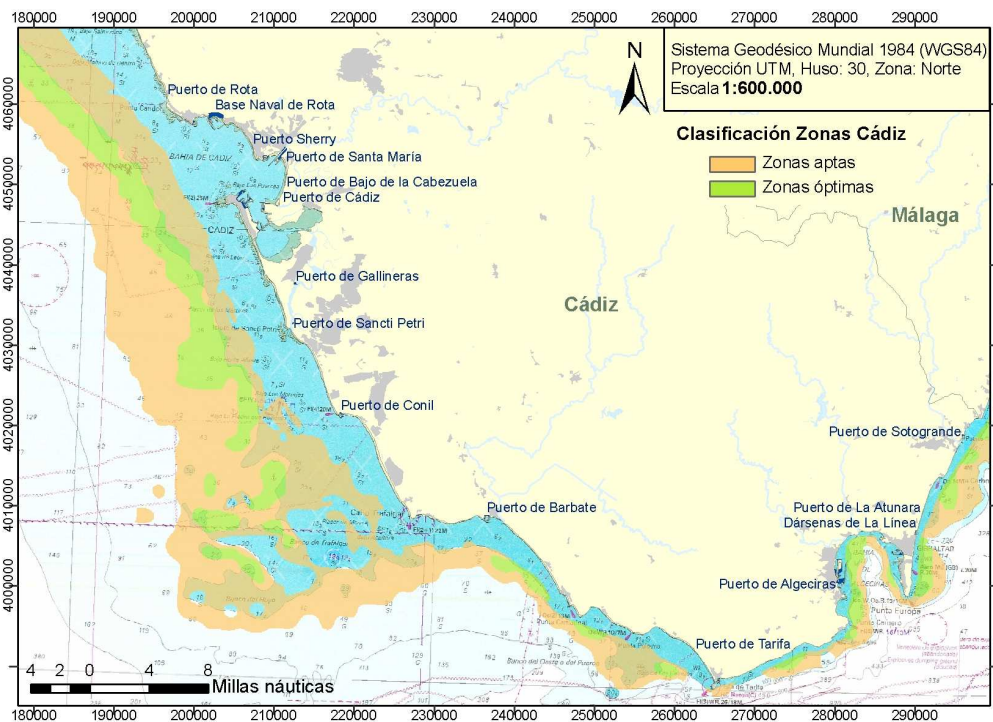
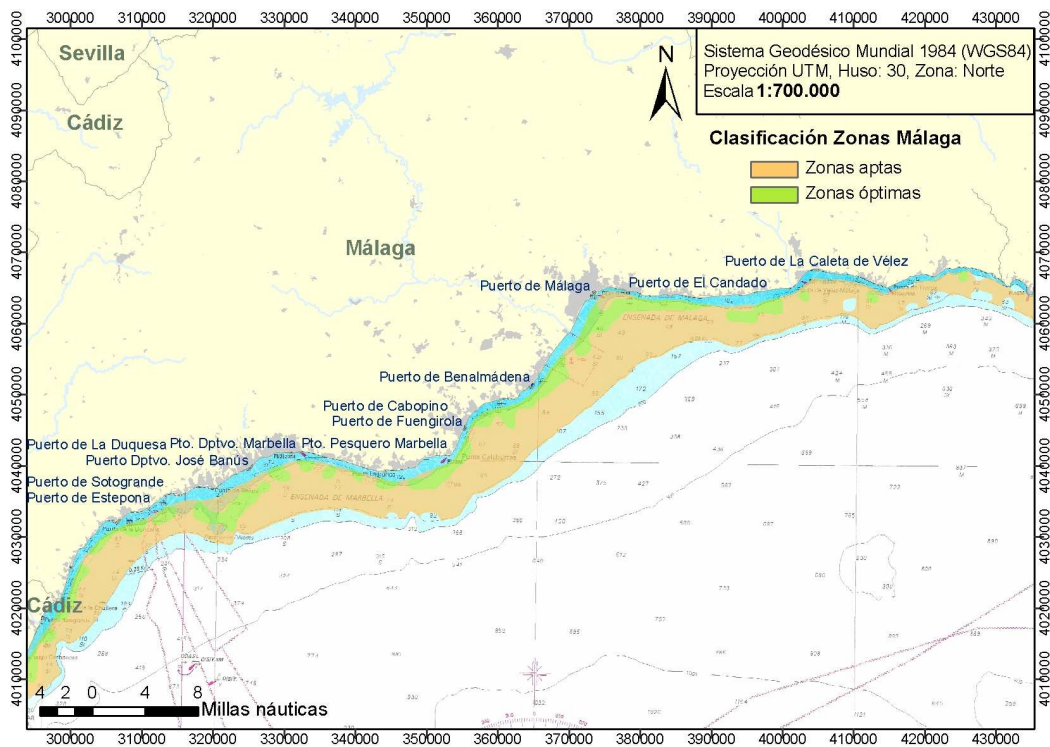


Figura 6.34 Representación de las zonas aptas y óptimas obtenidas en la provincia de Cádiz. Fuente: E.P. DAP

En las imágenes con los resultados para el análisis en la provincia de Huelva se observa un área amplia y continua de zona óptima, debido a que la amplia franja de zona batimétrica idónea coincide con valores muy adecuados de temperatura y clorofila. El principal inconveniente de estas zonas es la distancia a infraestructuras portuarias, cuyo valor mínimo es de aproximadamente 5 millas, que aumentan considerablemente frente a las costas del Espacio Natural de Doñana.

Por otro lado, en las costas atlánticas de la provincia de Cádiz, se observa cómo la franja óptima se va estrechando hasta las costas frente a Conil y Los Caños de Meca, donde desaparecen las zonas debido a la presencia de zonas con profundidades menores a 20 metros y a la disminución de los valores de clorofila principalmente.

Ya frente a las playas de Barbate y Zahara aparecen zonas optimas más discontinuas y de menor superficie, lo que se convertirá en situación habitual en las costas mediterráneas.



En las costas de la provincia de Málaga entre Estepona y Caleta de Vélez se observan unas zonas muy valiosas por sus características de temperatura y productividad en términos de Clorofila con profundidades óptimas en zonas cercanas a costa y abundantes zonas portuarias.

Estas zonas desaparecen del límite de las provincias de Málaga y Granada hasta la Punta de la Mona, apareciendo las únicas zonas óptimas de la provincia de Granada entre el puerto de Marina del Este y las costas cercanas al Puerto de Motril.

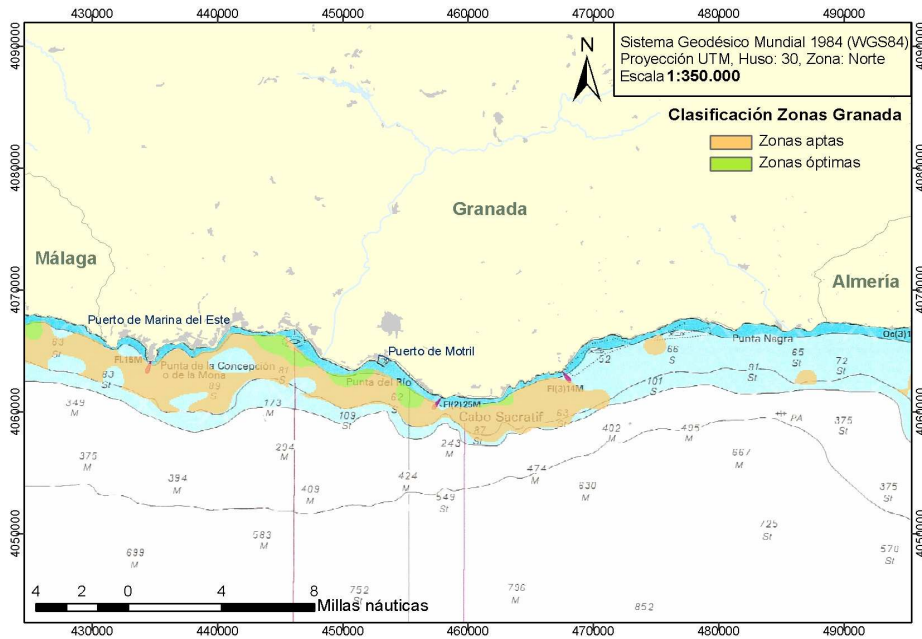


Figura 6.36 Representación de las zonas aptas y óptimas obtenidas en la provincia de Granada.

Por último en la provincia de Almería se pueden resaltar como zonas idóneas las costas entre el puerto de Adra y el de Almería, frente a Almerimar y Roquetas, siendo de menor interés las costa frente al Parque Natural de Cabo de Gata-Níjar.

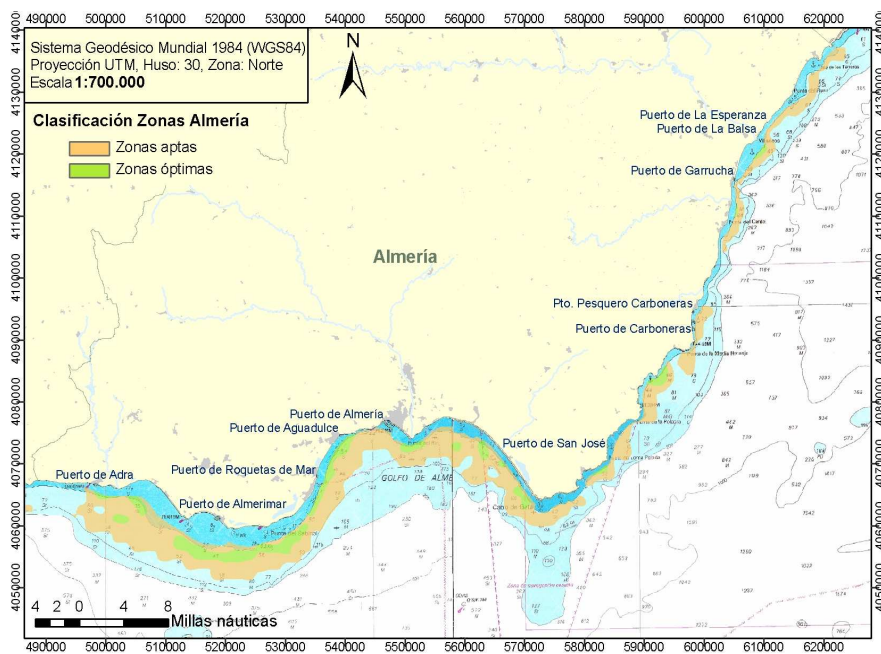


Figura 6.37 Representación de las zonas aptas y óptimas obtenidas en la provincia de Almería.  
Fuente: E.P. DAP

#### 6.4 Determinación de los patrones de fijación de semilla y evaluación de los métodos de obtención.

La disponibilidad de semilla de calidad en cantidades suficientes es uno de los aspectos más limitantes para el óptimo desarrollo de las fases iniciales del cultivo del mejillón (Fuentes & Molares, 1994), y por tanto determinante para la rentabilidad del mismo.

Habitualmente en las principales zonas de producción se han seguido diferentes métodos para la obtención de semilla: la recolección a partir del medio natural en zonas intermareales, y la captación en cuerdas colectoras suspendidas en las instalaciones de cultivo hasta unos 12 metros de profundidad aproximadamente. Si bien esta última opción supone un menor esfuerzo para los productores, es el sistema menos utilizado habitualmente debido a la impredecibilidad (tanto espacial como temporal) de la fijación de la semilla, así como la necesidad de disponibilidad de cuerdas y espacio para las tareas de laboreo (desdoble) una vez iniciado el cultivo.

Así, si bien la semilla procedente de cuerdas colectoras parece presentar un mayor crecimiento y rendimiento (Labarta et al., 2004), en las rías gallegas aproximadamente el 70% de la semilla utilizada en el cultivo proviene de la recolección de poblaciones naturales (Pérez Camacho et al., 1991; Cáceres-Martínez et al., 1993).

En la comunidad andaluza este aspecto es aún si cabe más crítico. Estudios previos realizados por la E.P. Desarrollo Agrario y Pesquero (“Estudio de nuevas experiencias de cultivo en mar abierto en el Mediterráneo” 2005-2007) sobre la evaluación de la capacidad del medio natural como posible fuente de abastecimiento de semilla han puesto de manifiesto la existencia de una elevada variabilidad espacial y temporal en la franja de litoral estudiado, con una disponibilidad de semilla en los bancos naturales inferior a las potenciales necesidades del sector en nuestra región.

Esta circunstancia determina la necesidad de estudiar y desarrollar otros sistemas de aprovisionamiento de semilla procedente del medio natural. Así, el proyecto recogido en esta memoria se ha centrado en el estudio de la captación de semilla mediante colectores en las instalaciones de cultivo.

El estudio de las bolsas colectoras utilizadas en la fase previa del proyecto (Figura 6.38; ver apartado 5.4.1) muestra la presencia de semilla en la línea de colectores dispuesta en la instalación de Marbella en el mes de mayo de 2007 (identificación 72B; Fotografía 6.1), así como en la línea de colectores situada en la misma instalación en el mes de julio de 2007 (66B).

Sin embargo, no se observó captación de semilla en el resto de colectores utilizados en la instalación a lo largo de 2007. Por el contrario, el análisis de las muestras obtenidas durante el mismo periodo en las otras dos instalaciones de cultivo indica ausencia de semilla tanto en Caleta de Vélez como en La Línea de la Concepción. Estos resultados previos apuntaban por tanto a la existencia de un periodo de fijación de semilla durante la primavera y verano en la instalación de Marbella, así como su ausencia en el resto de instalaciones.



	Mayo'07	Junio'07	Julio'07	Agosto'07	Septiembre'07	Octubre'07	Noviembre'07	Diciembre'07	Enero'08	Febrero'08	Marzo'08	Abril'08	Mayo'08
Caleta de Vélez	22C		65B	51B	71B	90B	44A	90C	40C	73B			
Marbella	72B		66B	63B	52B	54B	61B	98C	58C	32C			
La Línea de la Concepción	24C		25C		56B	21C	28C	62B	77C		75B		

**Figura 6.38** Fijación de semilla en bolsas colectoras. La línea continua indica presencia de semilla en esa bolsa colectoras en el periodo muestreado, mientras que la discontinua indica ausencia de semilla. **Fuente:** E.P. DAP



**Fotografía 6.1** Bolsa colectoras utilizada para la captación de semilla. **Fuente:** E.P. DAP

El análisis temporal de la cantidad de semilla presente en las cuerdas colectoras (ver apartado 5.4.1) fondeadas en los años 2008 y 2009 (Figura 6.39), pone de manifiesto intensos periodos de fijación claramente observables a finales de la primavera y comienzos de verano de 2008 y 2009 en las tres instalaciones estudiadas. Asimismo, se observa una continua fijación de semilla a lo largo del año, si bien en comparación con los periodos descritos anteriormente dicha fijación es muy escasa y variable.

El análisis de varianza (Tabla 6.10) llevado a cabo muestra un efecto significativo ( $P < 0.001$ ) de la zona sobre la fijación de semilla, poniendo de manifiesto diferencias en el patrón observado en cada una de las instalaciones de cultivo. La fijación fue mucho más abundante en Caleta de Vélez, especialmente en los meses de junio, mientras que en Marbella y La Línea de la Concepción la intensidad de estos episodios fue claramente menor.



Destaca especialmente la cantidad de semilla observada en Caleta de Vélez en junio de 2008, con valores de hasta 67000 individuos por unidad muestral, mientras que las abundancias en Marbella y La Línea de la Concepción alcanzaron valores máximos en torno a los 10000 individuos en julio de 2009 y apenas 1000 individuos en julio de 2008, respectivamente. En todos los casos, los episodios de fijación se detuvieron a finales de verano.

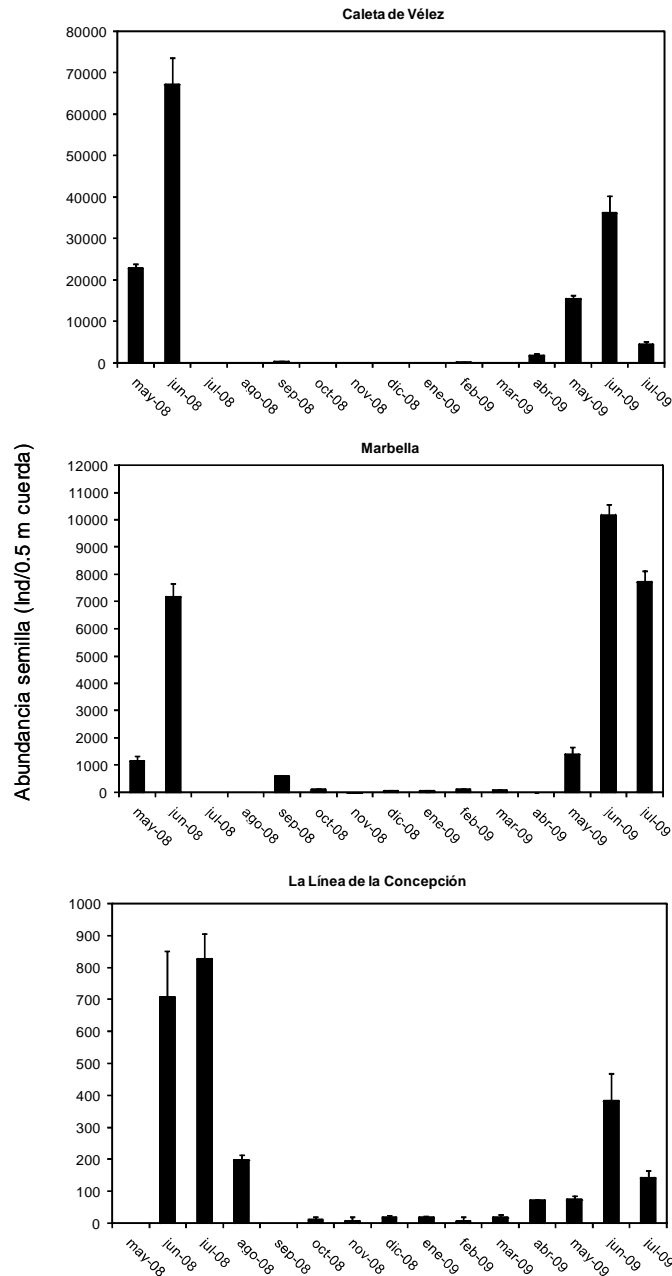


Figura 6.39 Evolución temporal fijación semilla en las tres instalaciones. Fuente: E.P. DAP

**Tabla 6.10** Análisis de varianza (ANOVA) de tres factores para analizar el efecto de la zona y la profundidad en la fijación de semilla para todas las instalaciones de cultivo.

Fuente variación	DF	SS	MS	F	P
Zona	2	125,77	62,88	116,19	<0,001
Profundidad	2	0,064	0,032	0,059	0,943
Interacción	4	0,501	0,125	0,231	0,92
Residual	91	49,25	0,541		
Total	99	178,77	1,806		

Además del patrón temporal, los resultados obtenidos muestran también diferencias en la fijación de semilla en relación con la profundidad, si bien este factor varía entre las instalaciones.

Tanto en Caleta de Vélez como en Marbella se observa un patrón de fijación en la columna de agua, especialmente en los meses de primavera y verano en los que se producen los episodios de fijación descritos anteriormente, si bien con resultados opuestos en algunos casos.

En Caleta de Vélez durante la primavera y el verano la semilla es significativamente ( $P < 0.001$ ) más abundante a 6 y 10 metros de profundidad, si bien durante el invierno (diciembre 2008-marzo 2009) la semilla aparece en mayor cantidad en superficie (Figura 6.40). En esta instalación las diferencias de fijación con la profundidad pueden alcanzar valores de hasta el 50%.

En Marbella este patrón estacional en relación a la profundidad no es tan claro, si bien sí existe un patrón espacial en las épocas de mayor fijación (Figura 6.41). En 2008, la fijación de semilla fue significativamente mayor ( $P < 0.001$ ) en superficie, mientras que en 2009 fue más abundante ( $P < 0.001$ ) a 6 y 10 metros de profundidad.

Al igual que en Marbella, en la Línea de la Concepción se observa un patrón de fijación con la profundidad (Figura 6.42), con ligeras variaciones en el periodo estudiado. En primavera y verano de 2008 se observa una mayor fijación en profundidad, con valores más elevados a 6 y 10 metros. Por el contrario, en 2009 en la misma época la fijación fue mayor a 6 metros de profundidad. En cualquier caso, en esta última instalación las diferencias verticales no fueron estadísticamente significativas. Asimismo, las menores abundancias y su variación en el tiempo dificultan la identificación de un patrón de variación claro con la profundidad en dicha instalación.

En todos los casos (Figuras 6.43, 6.44 y 6.45) las fracciones de tamaño analizadas muestran la distribución en profundidad descrita anteriormente para el total de la semilla. Si bien al inicio de los periodos de fijación la fracción dominante suele ser la más pequeña, conforme dicho episodio avanza en el tiempo, se observa un ligero aumento de la talla predominante.

Por lo tanto, la comparación de la talla predominante con la evolución de la abundancia nos permite determinar la duración aproximada del periodo de fijación, que suele comenzar en mayo y finalizar en agosto o septiembre.

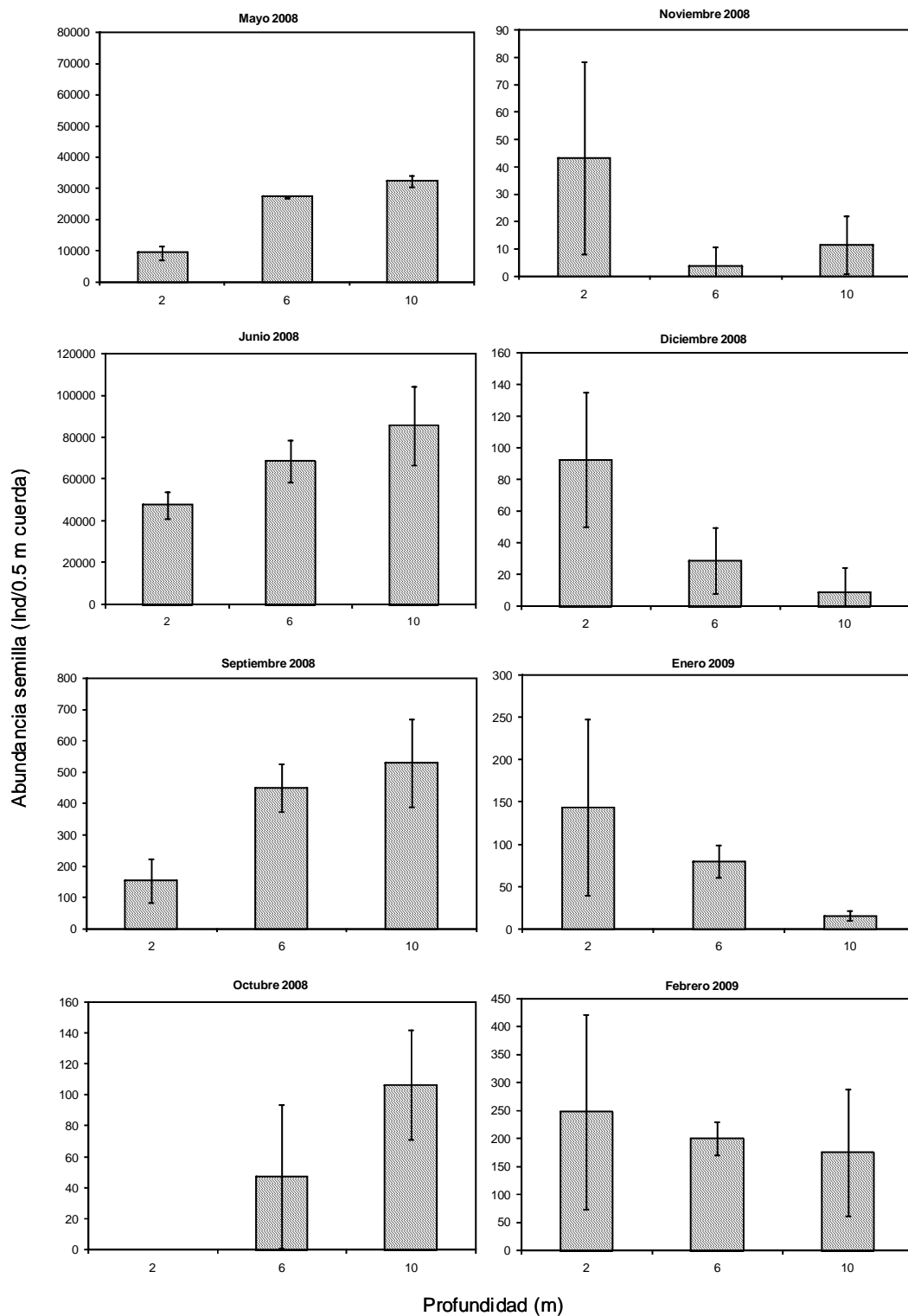


Figura 6.40a Fijación de la semilla en relación con la profundidad en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

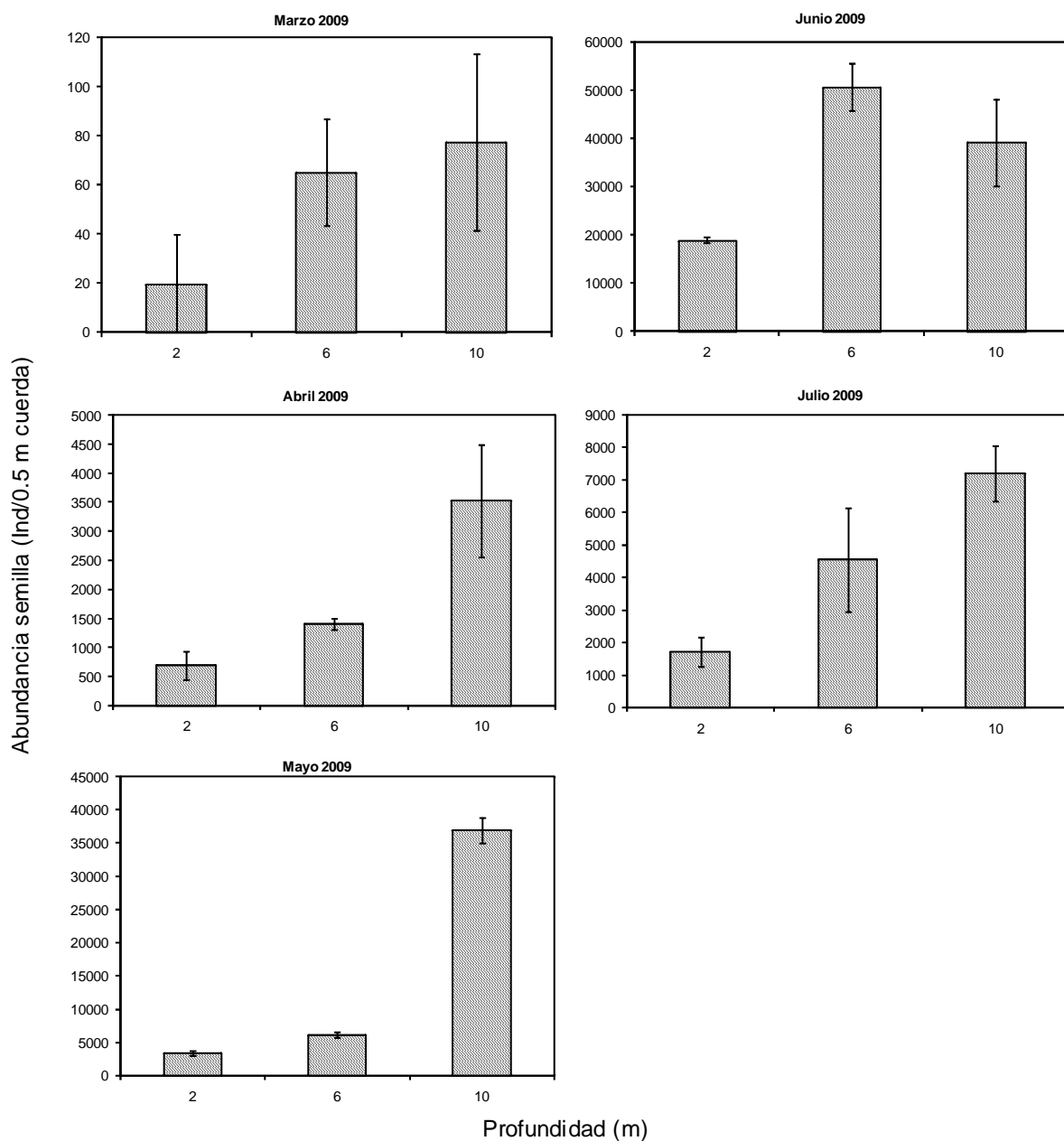


Figura 6.40b Fijación de la semilla en relación con la profundidad en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

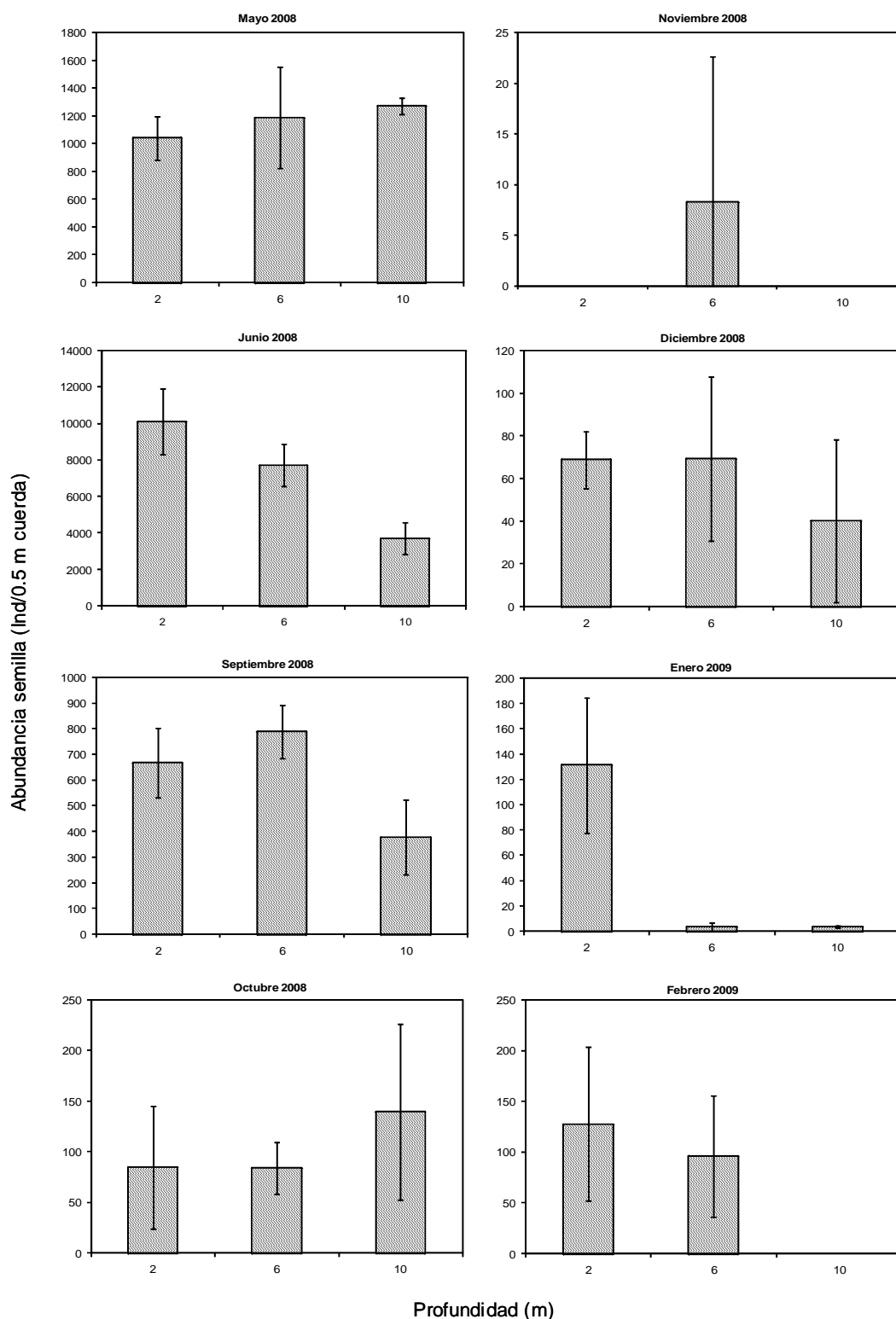


Figura 6.41a Fijación de la semilla en relación con la profundidad en Marbella. Fuente: E.P. DAP

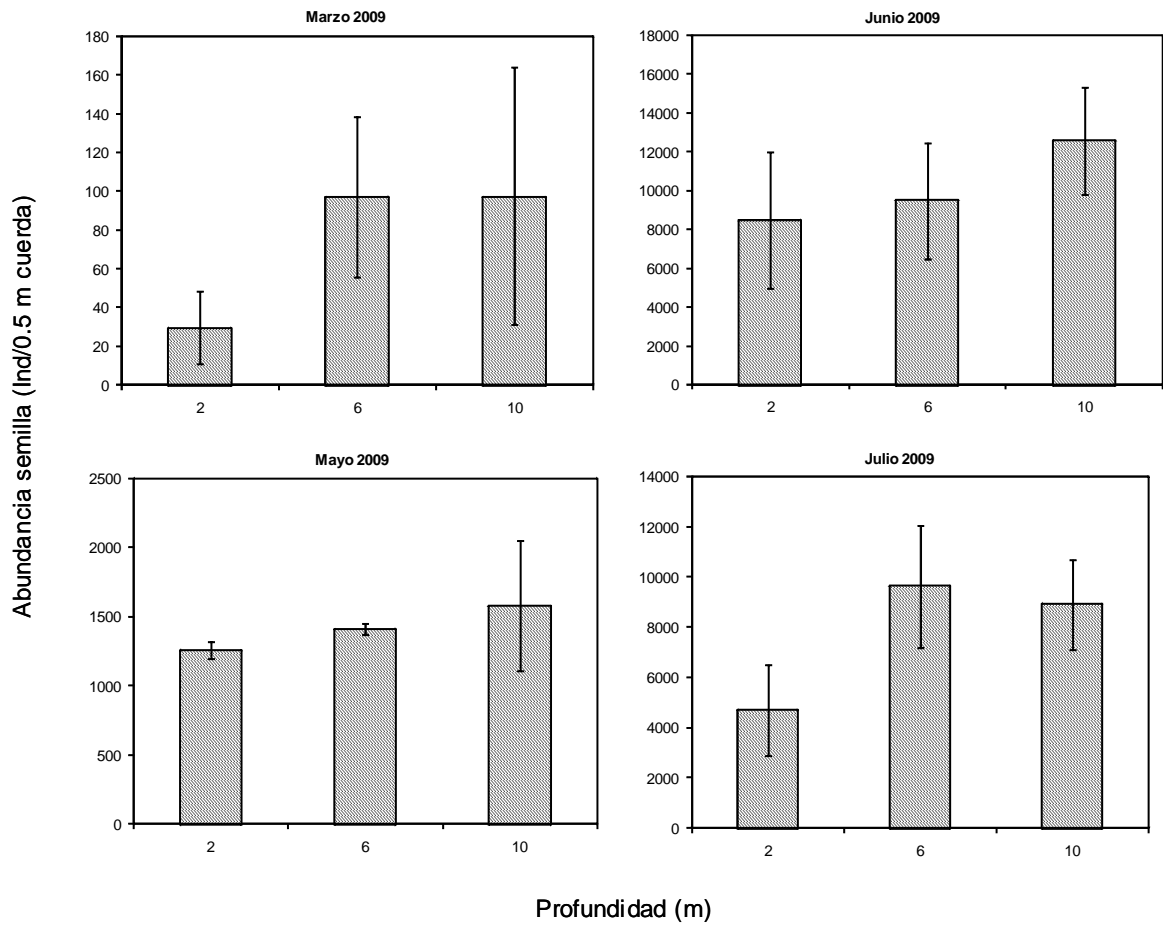


Figura 6.41b Fijación de la semilla en relación con la profundidad en Marbella. Fuente: E.P. DAP

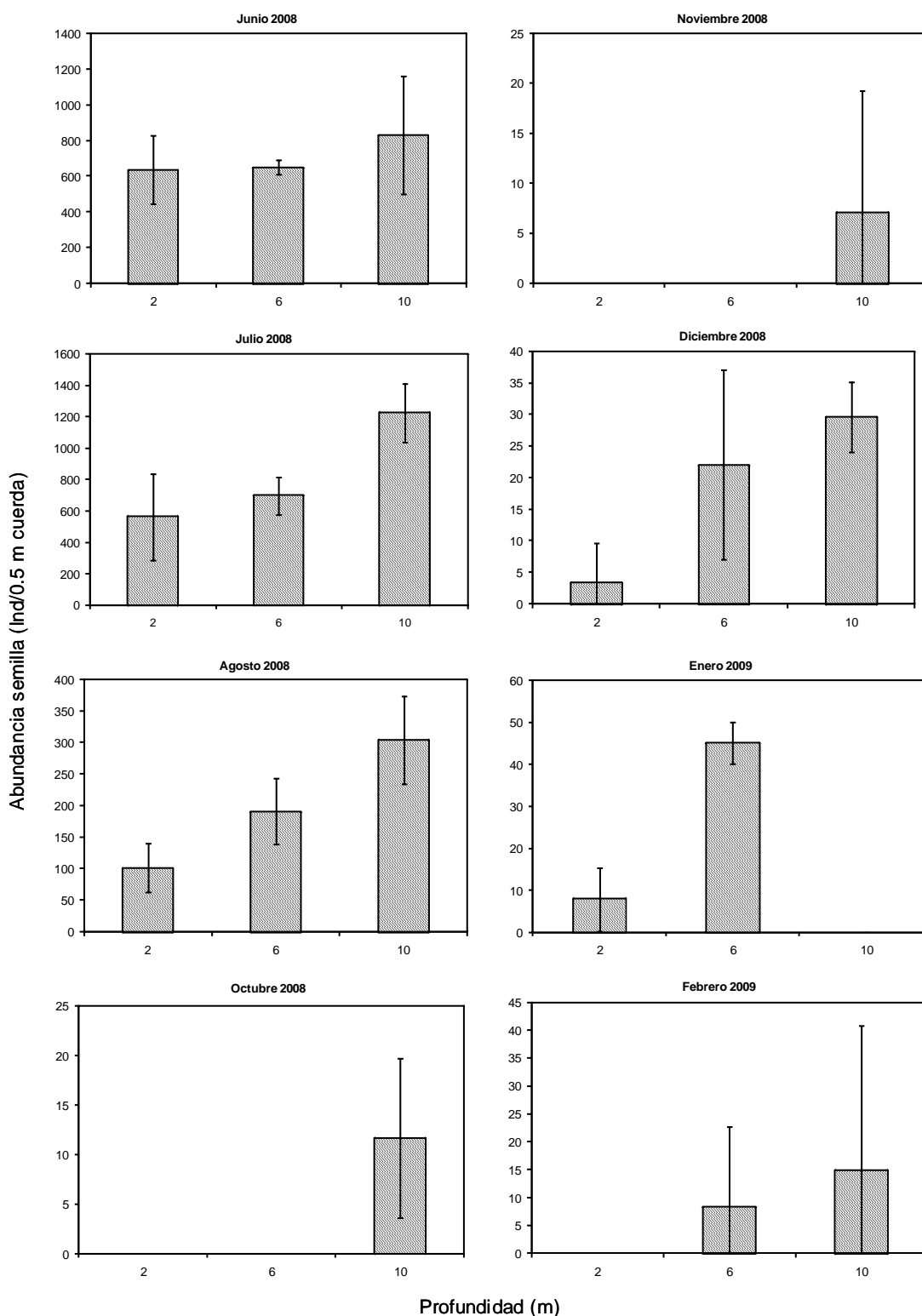


Figura 6.42a Fijación de la semilla en relación con la profundidad en La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP

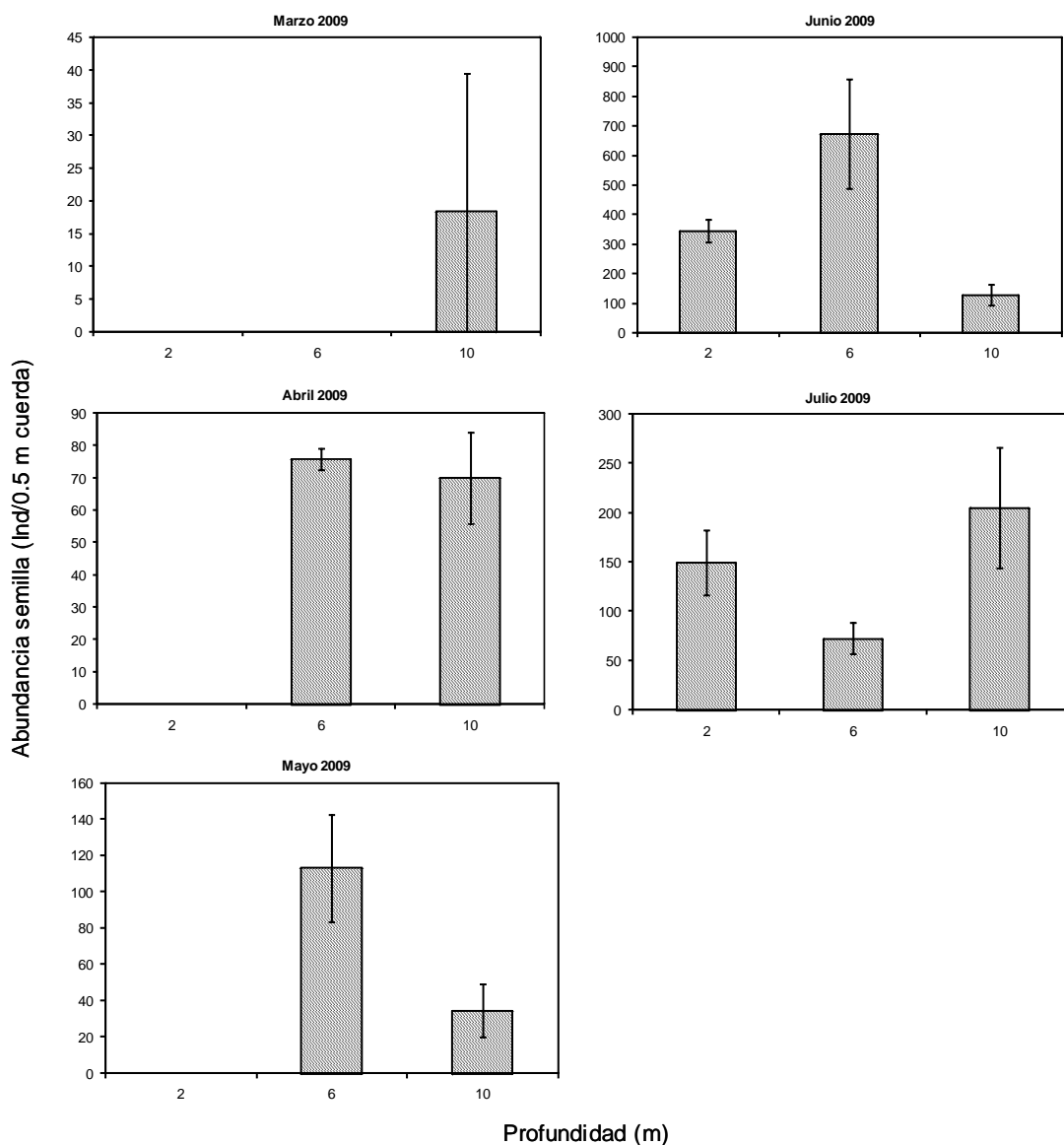


Figura 6.42b Fijación de la semilla en relación con la profundidad en La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP



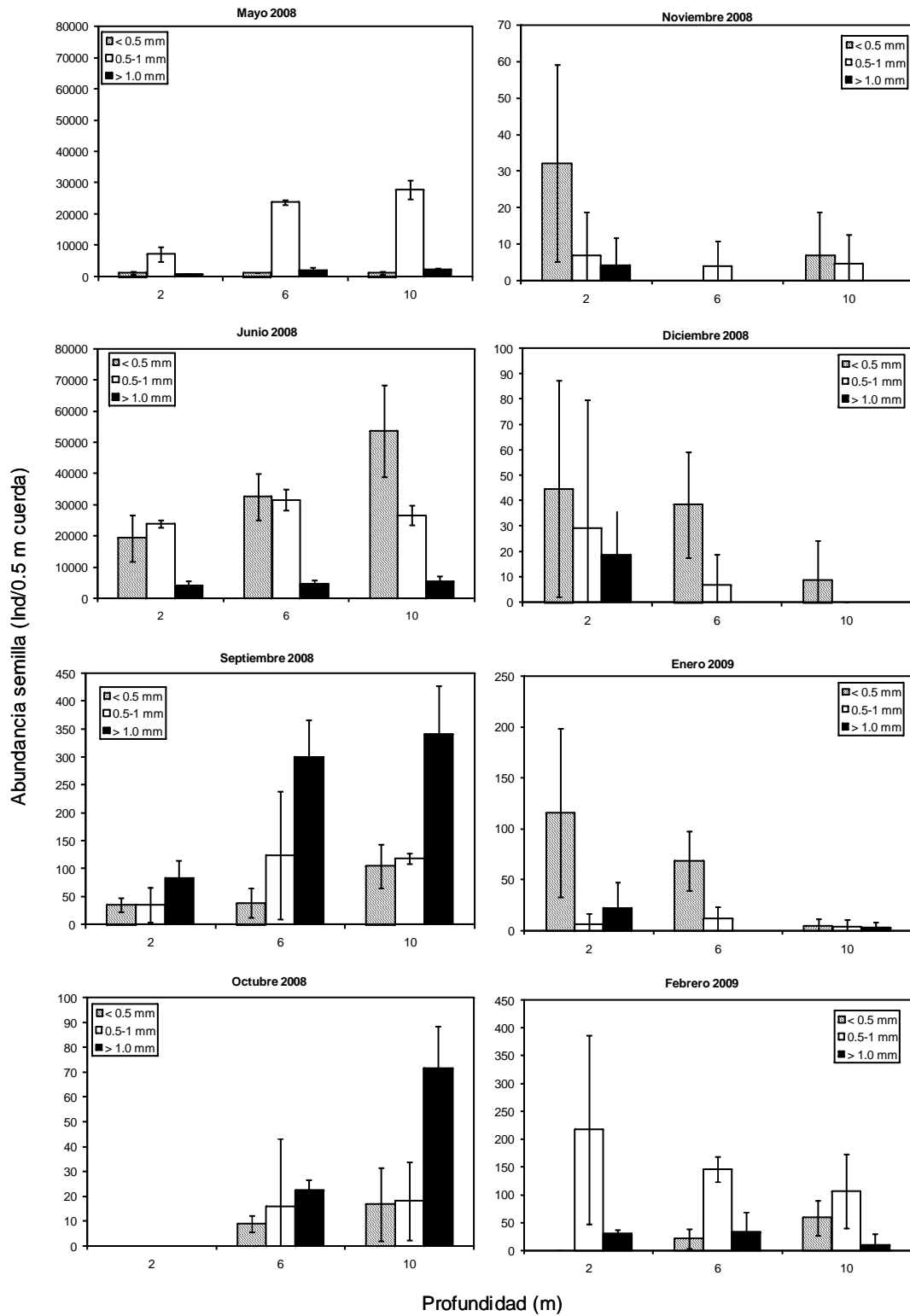


Figura 6.43a Distribución de tamaños semilla fijada en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

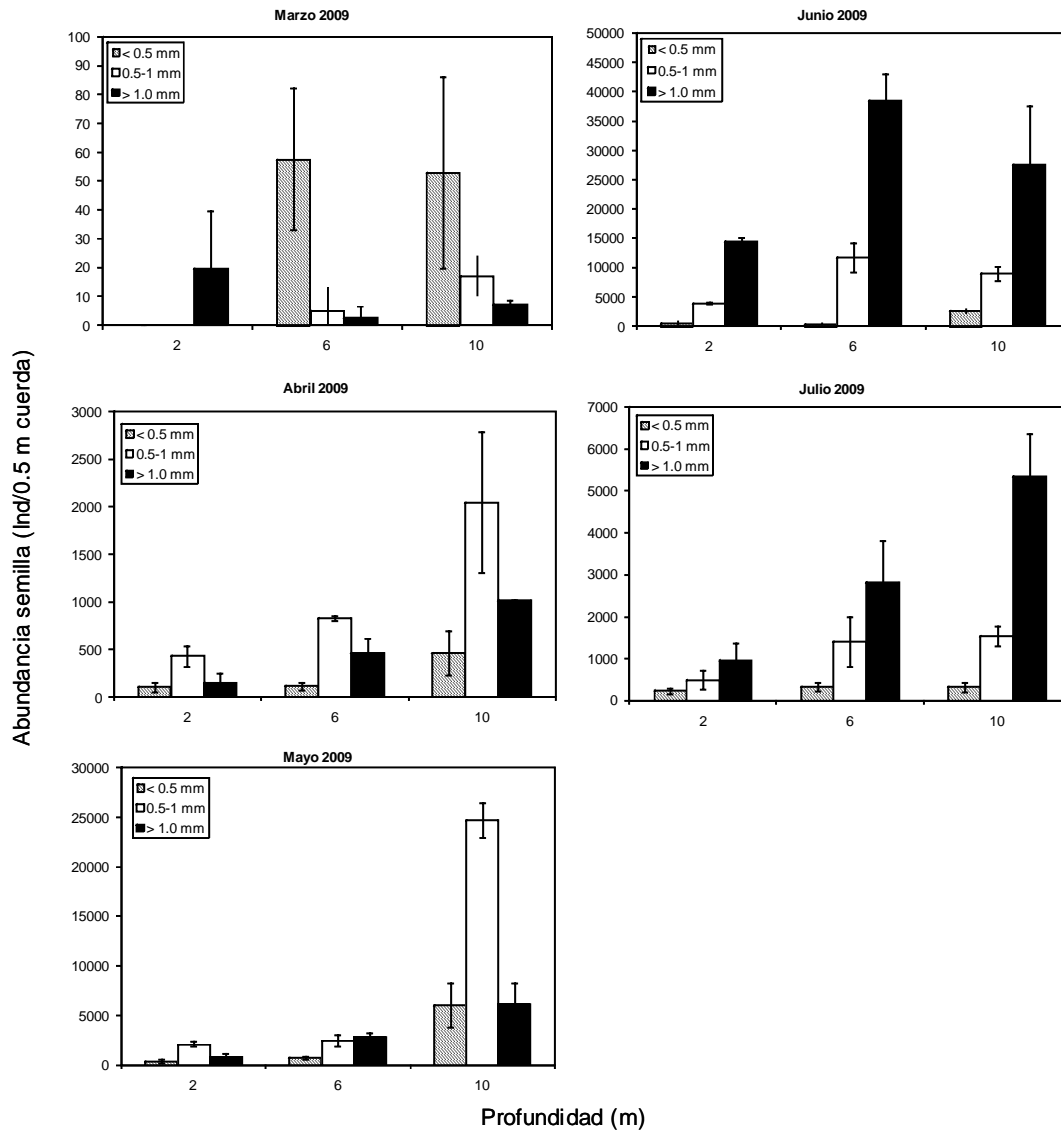


Figura 6.43b Distribución de tamaños semilla fijada en Caleta de Vélez. Fuente: E.P. DAP

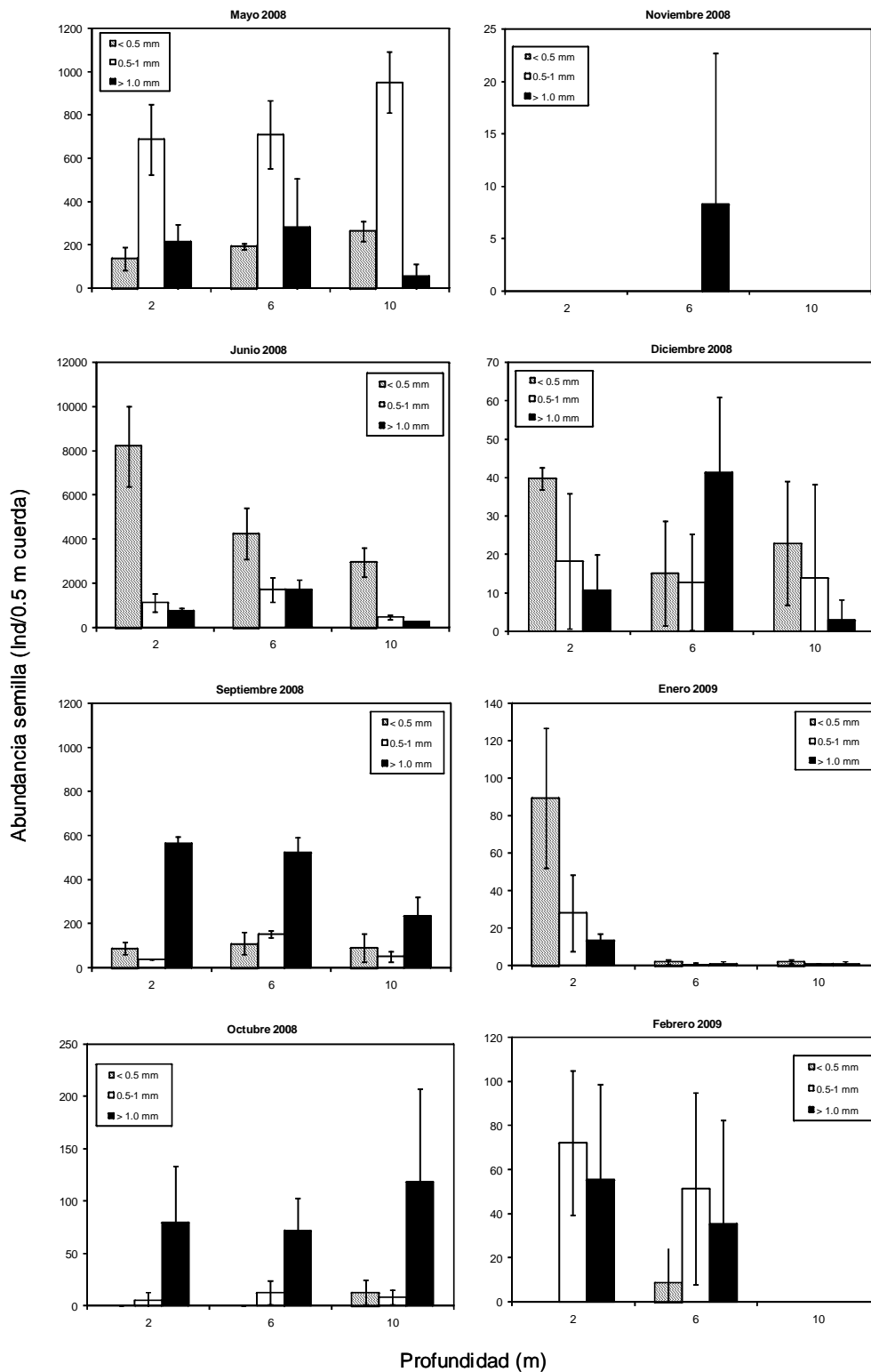


Figura 6.44a Distribución de tamaños semilla fijada en Marbella. Fuente: E.P. DAP

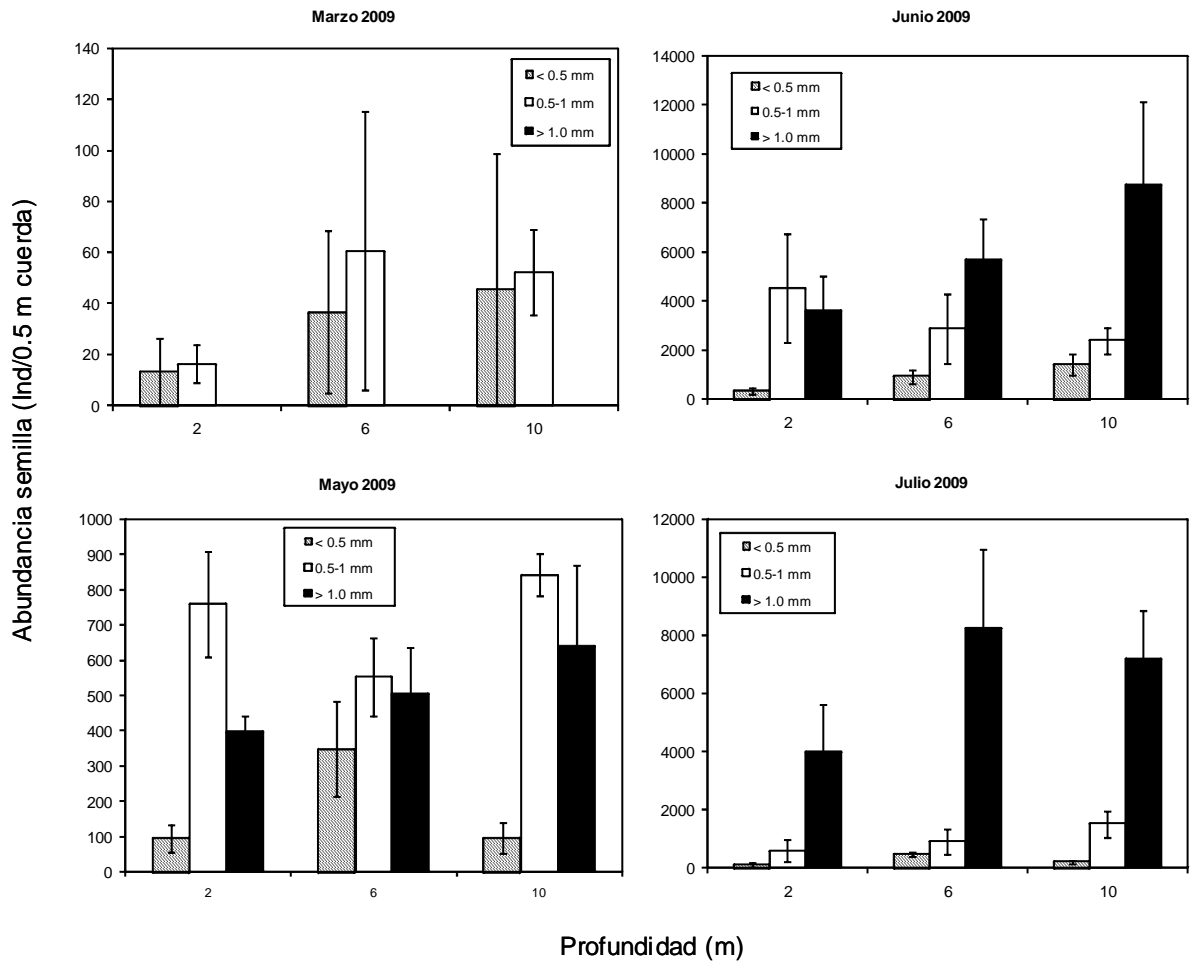


Figura 6.44b Distribución de tamaños semilla fijada en Marbella. Fuente: E.P. DAP

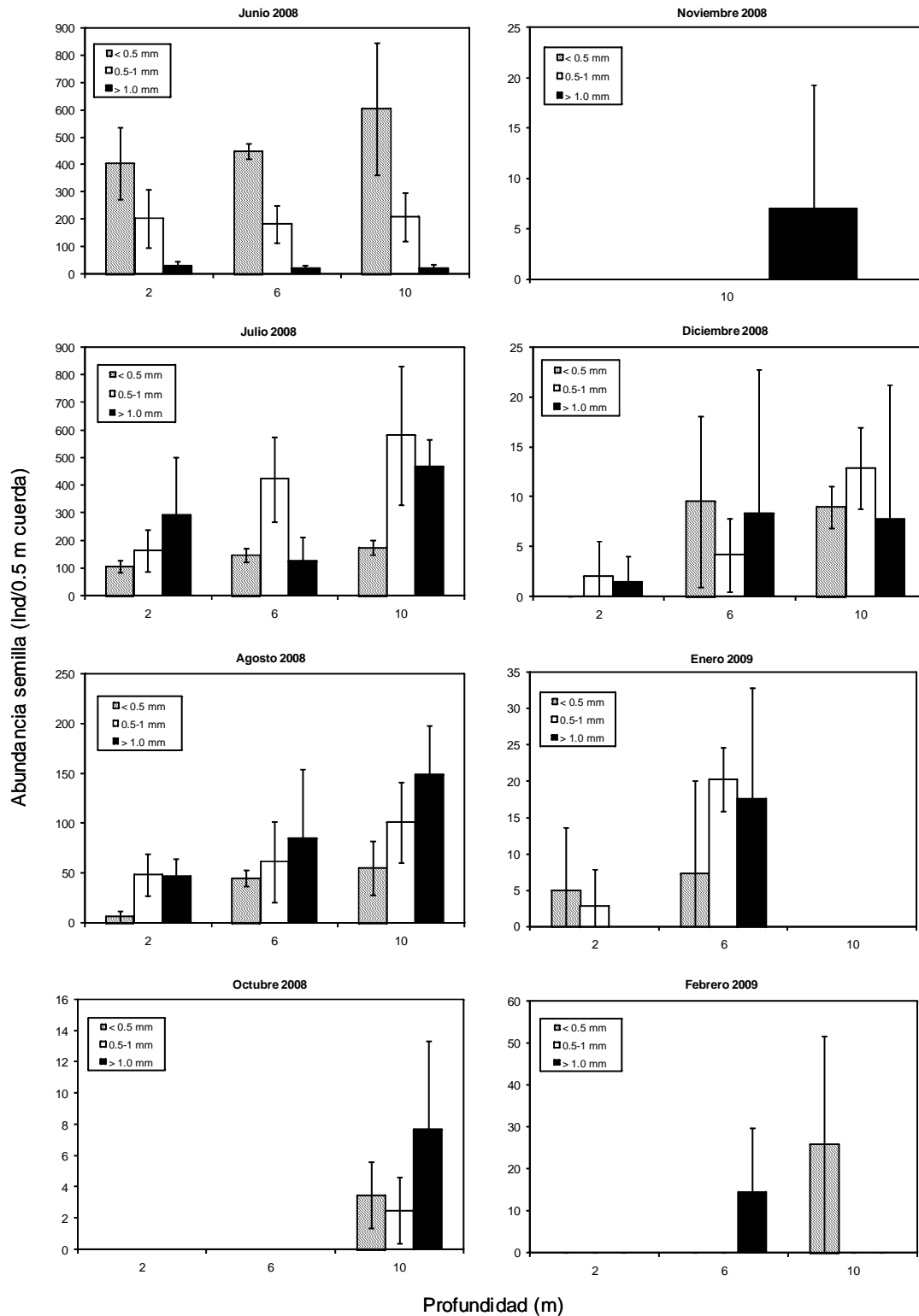


Figura 6.45a Distribución de tamaños semilla fijada en La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP

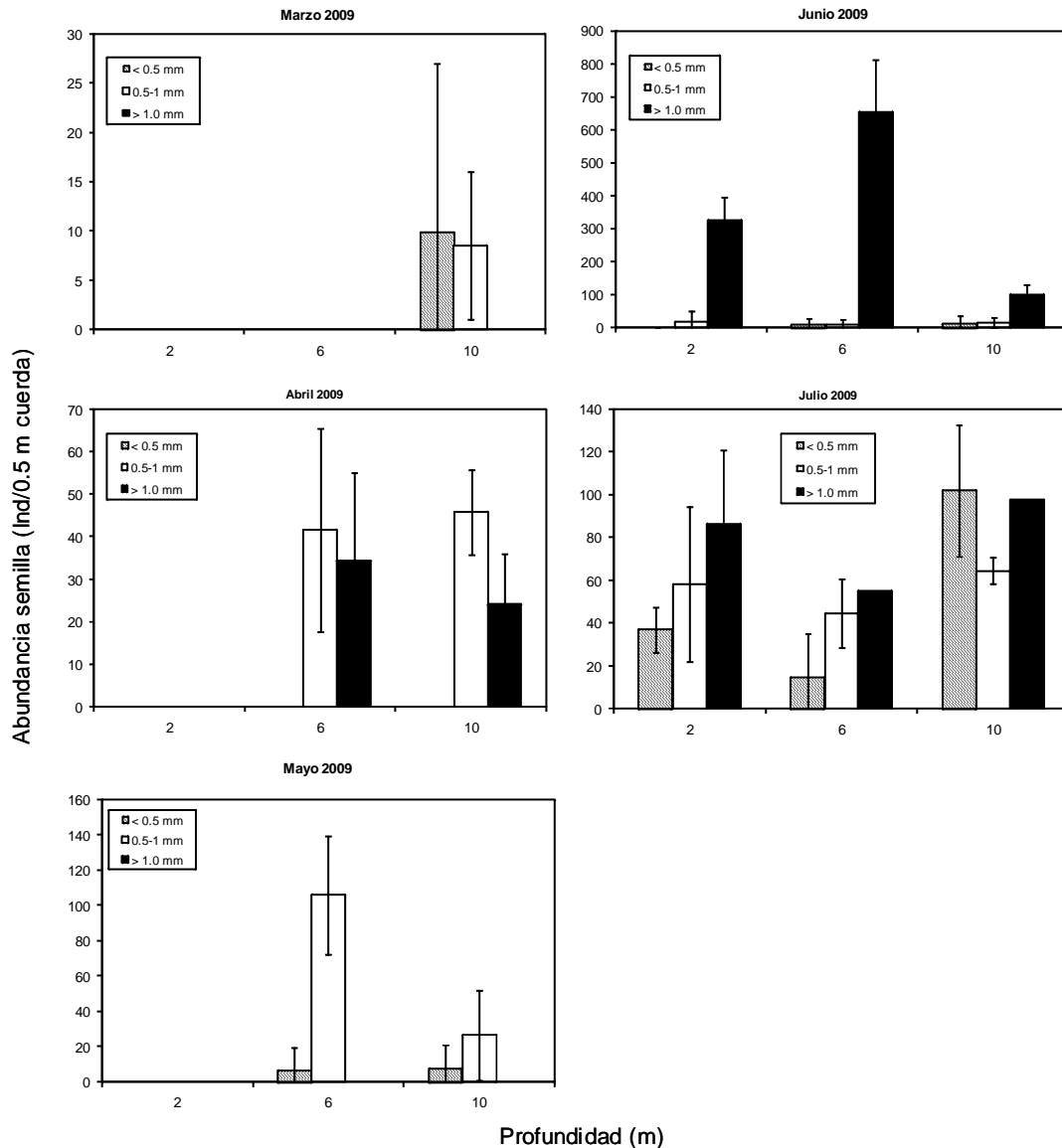


Figura 6.45b Distribución de tamaños semilla fijada en La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP

La determinación de patrones de fijación de semilla en Andalucía es un aspecto de gran interés para la ordenación y gestión del cultivo de mejillón en nuestra región, más aún cuando es previsible un incremento del volumen de esta actividad como consecuencia de la implantación de nuevas instalaciones de cultivo (Orden de 10 de abril de 2006-BOJA núm. 76, de 24 de abril de 2006).

Nuestros resultados han permitido identificar un patrón estacional en la fijación de semilla en nuestra región. Si bien se observa una fijación constante de individuos a lo largo del año, esta presenta un claro periodo de abundancia entre mediados de primavera y comienzo

del verano. Este patrón, si bien es común a las tres instalaciones estudiadas, pone de manifiesto una elevada variabilidad espacial.

En el año 2007 únicamente se detectó fijación de semilla en la instalación de Marbella, mientras que en el periodo 2008-2009 dicho episodio se produjo en las tres zonas de estudio, aunque con una clara disminución de su intensidad de Este a Oeste. En cualquier caso, el patrón temporal observado concuerda con los periodos de puesta descritos en el apartado 6.2.1 y con los ciclos biológicos del mejillón, que establecen un periodo de desarrollo larvario previo a la fijación de entre tres y ocho semanas (Seed, 1976; Fuentes et al., 1998; Cáceres-Martínez & Figueras, 1998). Así, si la liberación de gametos se produce en torno a los meses de abril y mayo, la fijación larvaria se da entre uno y dos meses después, es decir, entre junio y julio principalmente.

Aunque no es posible determinar el origen exacto de las larvas, el análisis del patrón de corrientes presente en la región puede aportar alguna explicación a este aspecto de fijación diferencial entre las instalaciones, ya que tanto en 2008 como en 2009, su intensidad aumenta desde La Línea de la Concepción hasta Caleta de Vélez.

En la época de fijación las corrientes predominantes desde el Estrecho de Gibraltar presentan una componente oeste, con lo que es posible que la semilla sea arrastrada hacia el este de la región. Además, se observa una disminución de la intensidad de la corriente en el eje Oeste-Este, con lo que es posible que en la zona más occidental los procesos hidrodinámicos provoquen un “efecto de lavado”, mientras que en la parte más oriental actúen “concentrando” las larvas, como resultado de un mayor tiempo de residencia de las aguas y de disponibilidad de alimento. Efectos similares de la corriente han sido descritos en otras zonas de producción del Mediterráneo (Sarà, 1994; Sarà & Mazzola, 1997). Estas circunstancias podrían ser las responsables de la fijación más intensa observada en Caleta de Vélez.

En relación con otras zona de producción nuestros resultados muestran periodos de fijación similares a los observados por Ramón et al. (2008) en las costas catalanas, y a los obtenidos por Cáceres-Martínez & Figueras (1997) en la Ría de Vigo, si bien estos autores extienden dicho periodo hasta septiembre. Sin embargo, son ligeramente anteriores a los descritos por Fuentes y Molares (1994), que establecen periodos de fijación en julio y agosto en la Ría de Arousa. Esta circunstancia concuerda con las impresiones descritas por el personal del sector mejillonero en nuestra región, quienes describen periodos de fijación en nuestras costas ligeramente anteriores a los observados en la comunidad gallega.

El análisis de la fijación de semilla en nuestra región pone también de manifiesto un patrón espacial en relación a la profundidad. En los episodios de fijación observados en Caleta de Vélez la semilla fue más abundante en profundidad. En Marbella el patrón muestra una variabilidad estacional, con concentraciones superficiales más elevadas en 2008, mientras que en 2009 fue mayor en profundidad. Por el contrario, en La Línea de la Concepción no existe un claro patrón vertical.

Algunos autores (Alfaro & Jeffs, 2003) han descrito procesos de fijación más abundantes en profundidad en zonas someras como consecuencia de la asociación de la semilla con diversos materiales (algas) que disminuyen su flotabilidad. Si bien esta hipótesis podría explicar la distribución vertical observada en Caleta de Vélez, donde los fondos se encuentran muy



cercanos a las cuerdas colectoras, la fijación en profundidad se produce bajo un régimen de velocidades verticales ligeramente descendentes de la masa de agua (apartado 6.1.3), que podría provocar una mayor concentración de semilla en los niveles más profundos. La fijación superficial observada en Marbella en 2008 coincide por el contrario, con un proceso de afloramiento en la zona, que podría explicar la abundancia de semilla en niveles más someros. Por lo tanto, los patrones espaciales observados en nuestra región son probablemente consecuencia de procesos hidrodinámicos.

Si bien series temporales más largas podrían determinar de manera más definitiva los patrones temporales y espaciales observados en la fijación de semilla de mejillón en nuestra región, nuestro análisis sugiere que las cuerdas colectoras deben ser situadas en las instalaciones a comienzos de la primavera y preferiblemente en profundidad si se quiere explotar de la manera más eficiente posible los procesos de fijación de semilla en nuestra región.

Finalmente, el análisis de los tipos de sustrato para fijación de semilla se ha realizado únicamente mediante la comparación de dos sistemas: bolsas para pectínidos y cuerdas colectoras de semilla. Si bien nuestro estudio no ha profundizado en este aspecto, los sistemas de captación utilizados habitualmente (cuerdas) parecen los más adecuados para esta tarea, ya que se han mostrado eficientes y son de más fácil manejo para los productores que las bolsas de captación para semilla de pectínidos.

En cualquier caso, considerando que entre los principales factores que influyen en la cantidad de semilla fijada están la superficie (Walter & Liebezeit, 2003), composición y el carácter filamentosos (Alfaro & Jeffs, 2003) del colector, queda pendiente la comparación de diversos tipos de materiales a la hora de optimizar y aumentar en lo posible la captación mediante colectores.

Asimismo, en la actualidad existen varios sistemas automatizados para la explotación de mejillones que permiten una captación de semilla más eficiente que la realizada mediante cuerdas de cultivo simples, denominados Smart farm (Fotografía 6.2) y Aquarac (Figura 6.46). Este último incluye además un sistema de redes antidepredadores.



**Fotografía 6.2** Sistema cultivo mitílidos en long-lines Smart Farm. **Fuente:** Smart Farm AS



Por último, se hace necesario un análisis de los factores que contribuyen a la variabilidad de la mortalidad de la semilla una vez se ha fijado en los colectores, tales como la competencia intraespecífica y la depredación (Guiñez & Castilla, 1999; Morrisey et al., 2006). Este último factor no sólo influye en la abundancia de la semilla fijada, sino también en la distribución de talla de la población.

Aunque diversos organismos tales como cangrejos y estrellas de mar (Freire et al., 1990; Freire & González-Gurriarán, 1995) son depredadores habituales de semilla de mejillón, diversos estudios han puesto de manifiesto la depredación por peces (Crooks, 2002; Bartsch et al., 2005; Rilov and Schiel, 2006) como el principal agente causante de mortalidad de semilla en la industria del cultivo del mejillón (Schiel, 2004; Morrisey et al., 2006). De hecho, diversos estudios describen el factor “atractivo” de las instalaciones mitícolas (y en especial de las bateas) para los depredadores, especialmente de peces (Tenoré et al., 1982), al proporcionar hábitat y fuente de alimento para estos organismos.

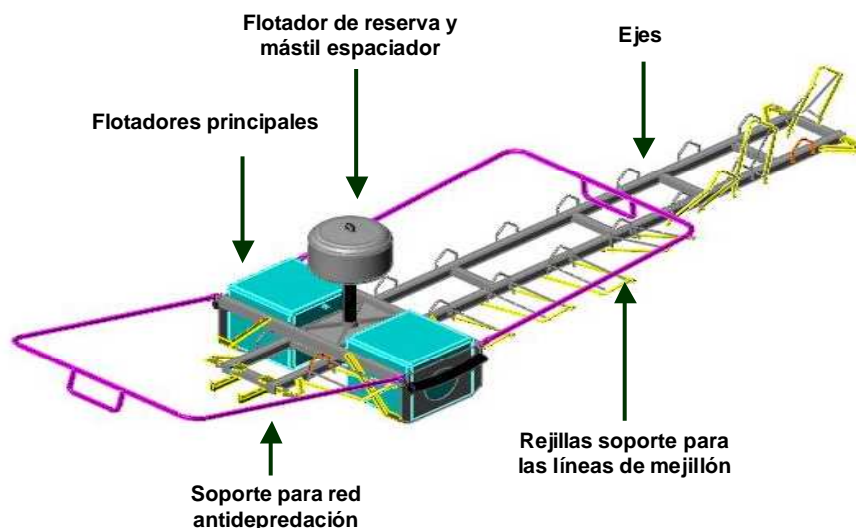


Figura 6.46 Sistema Aquarac de explotación de mitílicos. Fuente: Appin Maritime Ltd

Si bien nuestro estudio no ha analizado este aspecto de manera específica, los muestreos en las instalaciones así como el contacto con los productores nos permite afirmar que son las poblaciones de peces asociadas a las instalaciones de cultivo las responsables de la depredación de semilla en nuestra región. De hecho, su abundancia es tal que son numerosos los barcos pesqueros de pequeño tamaño que aprovechan este recurso en el entorno de los polígonos de cultivo, hasta el punto de que su actividad supone en ocasiones el enredo de las redes en las bateas.

El impacto producido por la depredación durante nuestro estudio ha sido variable en el tiempo y en las instalaciones, si bien en todos los casos ha provocado en algún momento la pérdida total de la población de semilla fijada o cultivada, poniendo por tanto en riesgo el ciclo de cultivo para la siguiente temporada. Asimismo, aunque en la depredación por peces el

tamaño resulta un factor muy importante, ya que la presión depredadora se centra en las clases de menor tamaño, nuestras observaciones indican ataques a un amplio rango de tamaños.

En los individuos de mayor talla el impacto no viene dado por su consumo, sino por daños externos causados sobre las valvas que afectan al crecimiento normal del individuo y a la forma final de la valva. Por lo tanto, la depredación supone un fuerte impacto económico en el cultivo, no sólo en la densidad de individuos, sino también en su tamaño y forma (aspectos estos de gran importancia para su valor posterior en el mercado).

Ante esta situación los productores han optado por diversas estrategias. La utilización de cuerdas más rígidas con lazos supone un mayor refugio para la semilla, pero al crecer queda expuesta y es atacada igualmente. Además, su utilización supone problemas funcionales para la extracción posterior del producto.

En las instalaciones estudiadas se ha optado por la utilización de unas mallas protectoras que se sitúan alrededor de la cuerda en toda su longitud (Fotografía 6.3). Aunque se han probado diferentes tamaños de malla, el de en torno a 1 cm ha resultado eficaz. Esta estrategia ha dado buenos resultados, aunque supone un coste extra así como un mayor consumo de tiempo en la manipulación diaria de las cuerdas. En cualquier caso, estas circunstancias y el importante impacto causado en las instalaciones de cultivo determina que la depredación sea un factor a tener en cuenta en el cultivo del mejillón en nuestra región.



**Fotografía 6.3** Malla protectora alrededor de cuerda con semilla. **Fuente:** E.P. DAP

### 6.5 Biotoxinas nocivas para el cultivo del mejillón.

La acuicultura actual de bivalvos presenta uno de sus mayores problemas en el desarrollo de procesos tóxicos de origen fitoplanctónico. Estas toxinas endógenas pueden resultar tóxicas para los organismos acuáticos, llegando a incrementar la tasa de mortalidad de las poblaciones cultivadas, o bien acumularse en un organismo huésped, convirtiéndolo en no apto para el consumo humano.

Si bien estos procesos tienen menores consecuencias en el cultivo del mejillón que en el de otros bivalvos (Blanco et al., 2006), su incidencia tiene un fuerte impacto en la producción de estos organismos ya que impiden su comercialización y los hace peligrosos desde un punto de vista sanitario.

Las toxinas fitoplanctónicas presentes en las costas andaluzas son principalmente de tres tipos, dependiendo de su origen y del efecto causado, y son producidas por varias especies (Tabla 6.11).

Las toxinas DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning*) o diarreicas provocan trastornos gastrointestinales. Las toxinas paralizantes o PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning*) bloquean, entre otros, el canal de transporte del sodio, especialmente importante en las células nerviosas. Entre las toxinas de tipo amnésico o ASP (*Amnesic Shellfish Poisoning*), el ácido domoico es el más importante, actuando sobre el sistema nervioso central humano bloqueando determinados receptores neuronales.

**Tabla 6.11** Principales toxinas fitoplanctónicas, organismos que las producen y principales efectos

Intoxicación	Tipo de toxina	Especies	Sintomatología
PSP	Saxitoxina. Neosaxitoxina y otros derivados.	Alexandrium tamarense Alexandrium catenella Alexandrium minutum Gymnodinium catenatum	Parestesia perioral, que se extiende a manos y pies, parálisis, sensación de ingravidez. Puede ser mortal.
DSP	Ácido Okadaico y otros derivados.	Dinophysis acuminata. Dinophysis acuta, Dinophysis caudata, Dinophysis mitra, Dinophysis rotundata, Dinophysis tripos, Dinophysis saculus, Dinophysis spp., Dinophysis diegensis, Dinophysis fortii, Prorocentrum lima,	Alteraciones digestivas como vómitos, diarreas, dolor abdominal. No hay registrados casos mortales. Promotoras de tumores.
ASP	Ácido Domoico.	Pseudo nitzschia spp., Pseudo nitzschia multistriata, Pseudo nitzschia fraudulenta, Pseudo nitzschia australis, Pseudo nitzschia delicatissima	Gastroenteritis y pérdida de memoria. Puede ser mortal.

Los resultados incluidos en esta memoria se basan en los análisis realizados a partir del control y seguimiento de las condiciones sanitarias en las zonas de producción de moluscos bivalvos (ver apartado 5.5). Estos abarcan un total de 10 años (2000-2009), aunque el cultivo de mejillón en las costas andaluzas es más reciente y por tanto el control sanitario de mitílidos abarca un periodo menor.

Los primeros análisis se iniciaron en la instalación de la Línea de la Concepción a mediados del año 2001, si bien no fue hasta finales de 2003 cuando estos se hicieron de manera periódica. En Marbella los análisis se remontan a 2002 y en Caleta de Vélez comenzaron a mediados del año 2006. Estos registros cubren por tanto un periodo significativo en el que la producción de mejillón ha ido aumentando, suponiendo por tanto un importante registro temporal de la incidencia de los episodios de toxinas en el cultivo de este bivalvo en la costa andaluza.

Las figuras 6.47, 6.48, 6.49, 6.50 y 6.51 muestran la evolución anual de los niveles de toxinas presentes en los cultivos de mejillón para cada una de las instalaciones estudiadas. Un primer análisis de los resultados pone de manifiesto una elevada variabilidad temporal y espacial en la intensidad y ocurrencia de estos episodios, de manera que existen años en los que los niveles de toxinas apenas superan los niveles permitidos y otros en los que su incidencia es mayor.

En la Línea de la Concepción los niveles de PSP (Figura 6.47) sobrepasaron el valor de alarma en todos los años en los que se posee registros, a excepción de 2005 y primera mitad de 2009. En estos años, los niveles se mantuvieron en valores muy bajos, casi por debajo del límite de detección del método de análisis. Por el contrario, durante el año 2004, seguido de 2006 y 2007, la incidencia de esta toxina fue máxima, provocando el cierre de la instalación por periodos de hasta un total de 100 días al año (2004).

Esta situación es muy similar a la observada en la instalación de Marbella (Figura 6.48), donde el 2005 y el 2009 han sido años sin positivos por PSP. Sin embargo, en aquellos años en los que se ha producido positivos, su número fue claramente mayor que en la instalación anterior, con cierres por PSP de hasta 177 días (año 2003).

Los registros en Caleta de Vélez (Figura 6.49) indican positivos entre 2006 y 2008, así como ausencia de PSP durante la primera mitad de 2009. En todos los casos los positivos por PSP en nuestra región son consecuencia de elevadas concentraciones del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum* principalmente, que suelen comenzar en otoño y alcanzar máximos en invierno.

Las toxinas amnésicas (ASP) tienen una baja incidencia sobre el mejillón en nuestra región, sin que se hayan detectados niveles por encima del límite permitido entre 2001 y 2008. Sólo se han producido positivos por elevados niveles de estas toxinas en las instalaciones de La Línea de la Concepción y Marbella (Figura 6.50) entre marzo y abril de 2009, alcanzando valores de hasta 63.11 µg de AD en esta última instalación. En Caleta de Vélez, si bien en esas fechas se observan pequeñas concentraciones de esta toxina, no llegaron a sobrepasar los niveles de alarma.

Finalmente, las toxinas diarreicas (DSP) (Figura 6.51) presentan positivos en las instalaciones de La Línea de la Concepción y Marbella, centrados principalmente en los años



2005-2006 en la primera, y en el periodo 2003-2006 en la segunda. En cualquier caso los positivos se corresponden principalmente a concentraciones de *D. acuminata* y *D. caudata*, que tienen una mayor incidencia en Marbella. En Caleta de Vélez su impacto es mucho menor, con positivos por esta toxina únicamente en agosto de 2006 y enero-febrero de 2007.

Una vez que se detecta un positivo por cualquiera de las toxinas descritas, se procede al cierre de la instalación para la explotación del recurso, por lo que durante el periodo que dure el episodio tóxico no es posible extraer mejillón para su comercialización. Por lo tanto, dado que estas toxinas no suelen causar la mortandad de las poblaciones de mejillón cultivadas, el impacto de los positivos por biotoxinas se traduce en días de cierre, que son utilizados habitualmente para analizar la incidencia de estos episodios sobre el cultivo del mejillón.

La distribución de los días de cierre al año por toxinas (Figuras 6.52, 6.53 y 6.54) refleja la variabilidad temporal y espacial descrita anteriormente. En las tres instalaciones es la toxina PSP la que provoca un mayor número de días de cierre, que durante este periodo han sido más numerosos en Marbella, La Línea de la Concepción y Caleta de Vélez respectivamente. En todas las zonas estudiadas los cierres pueden abarcar meses completos y consecutivos (por ejemplo, años 2006-2007 en Caleta de Vélez), lo que supone un fuerte impacto para la comercialización de la producción especialmente en épocas de mayor venta.

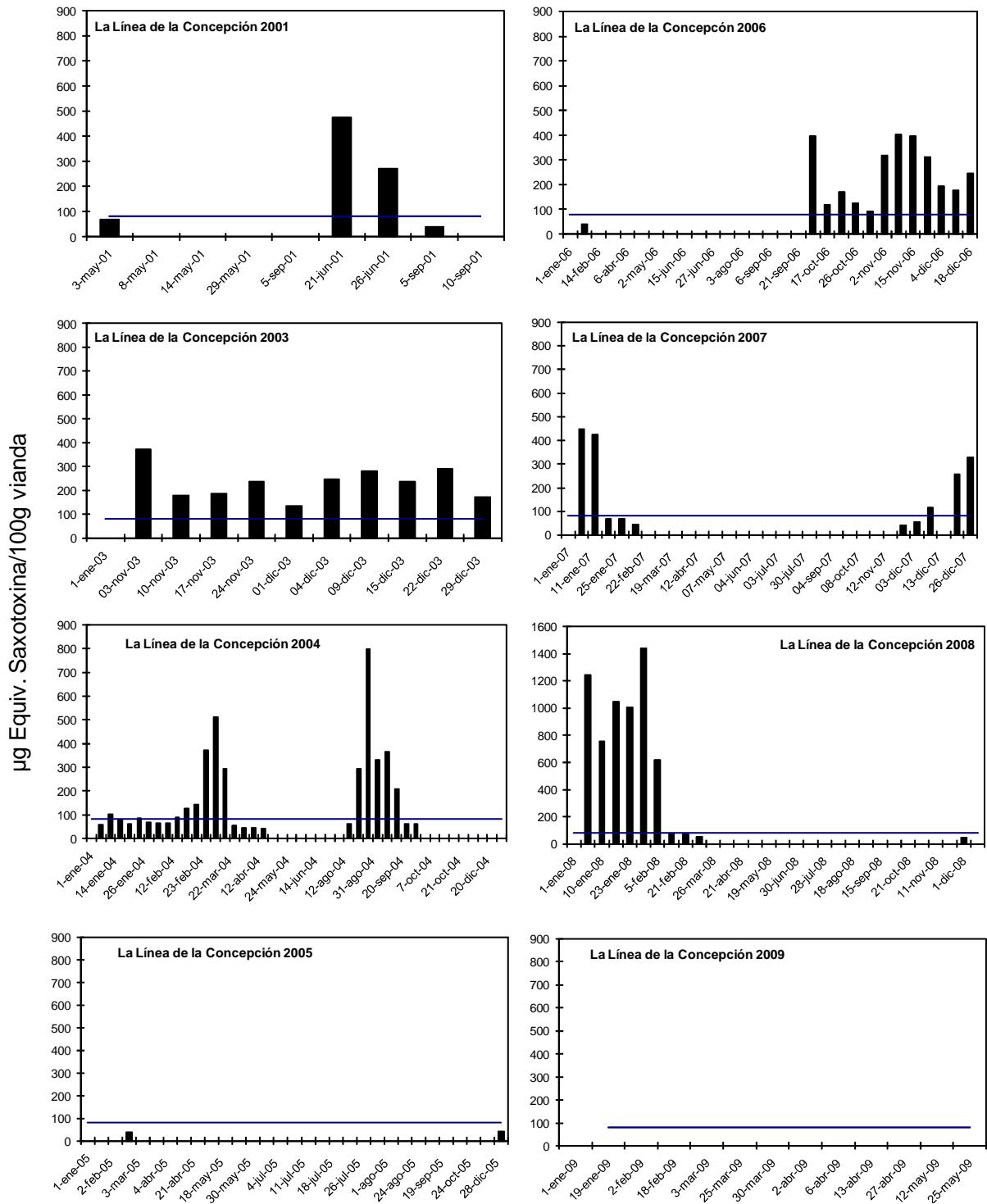


Figura 6.47 Distribución temporal de los niveles de toxinas PSP en La Línea de la Concepción. La línea azul indica el límite legal permitido (80µg/100 g vianda). Fuente: E.P. DAP

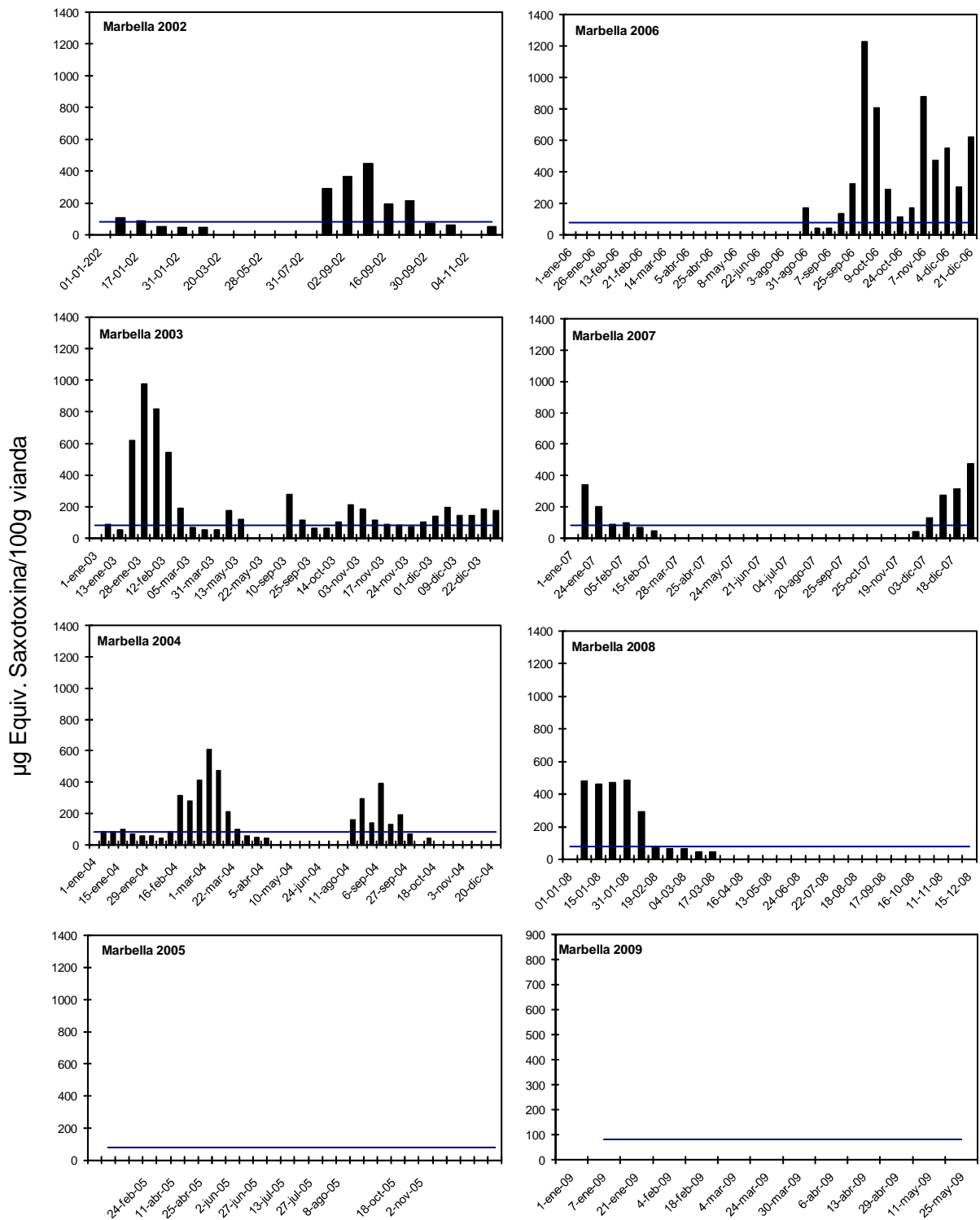


Figura 6.48 Distribución temporal de los niveles de toxinas PSP en Marbella. La línea azul indica el límite legal permitido ( $80\mu\text{g}/100\text{g}$  vianda). Fuente: E.P. DAP



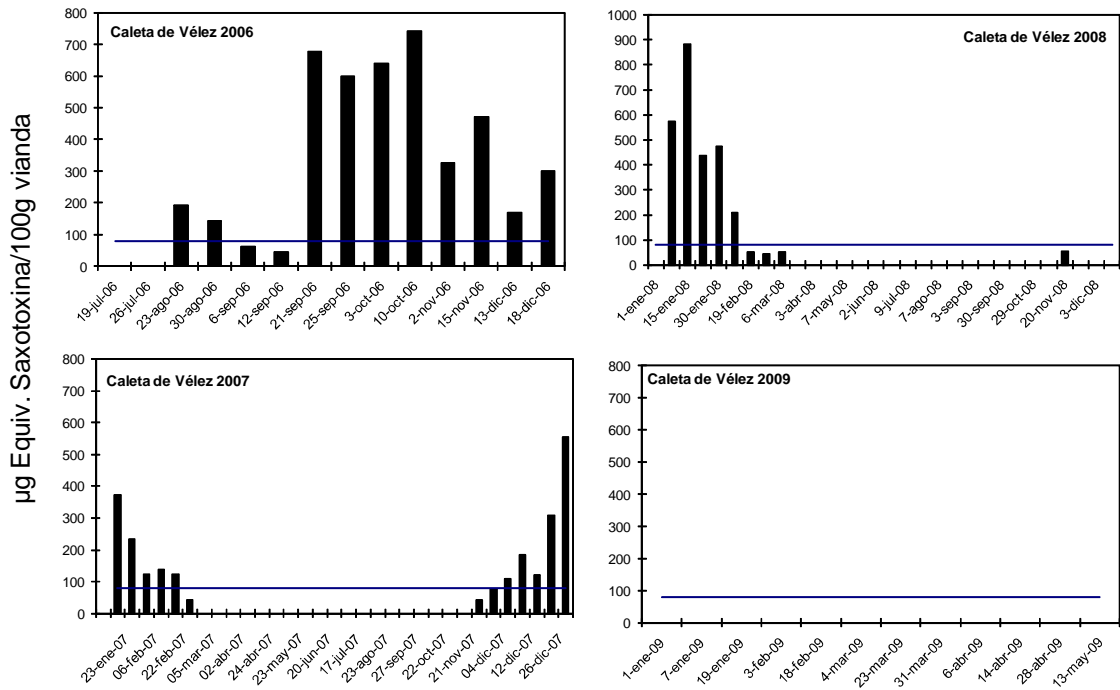


Figura 6.49 Distribución temporal de los niveles de toxinas PSP en Caleta de Vélez. La línea azul indica el límite legal permitido (80µg/100 g vianda). Fuente: E.P. DAP

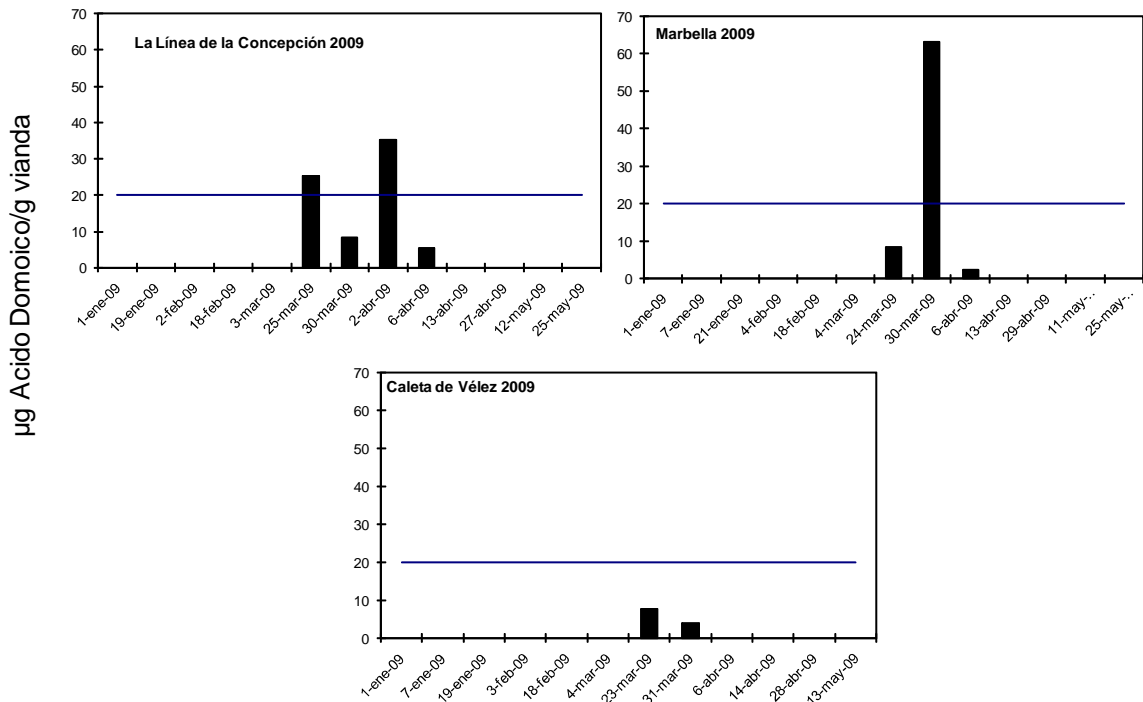


Figura 6.50 Distribución temporal de los niveles de toxinas ASP en las tres instalaciones durante el primer semestre de 2009. La línea azul indica el límite legal permitido (20µg/g vianda). Fuente: E.P. DAP





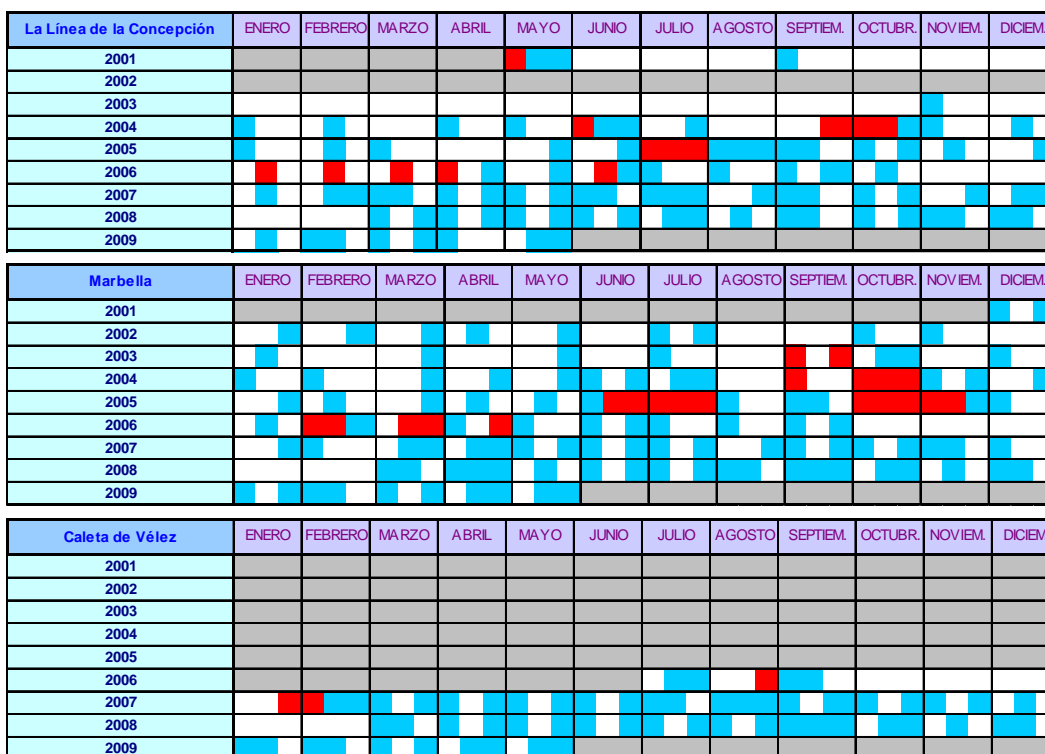


Figura 6.51 Distribución temporal de los niveles de toxinas DSP en las tres instalaciones estudiadas. El color azul indica análisis negativo, el rojo corresponde a resultado positivo y el blanco a ausencia de análisis. Fuente: E.P. DAP

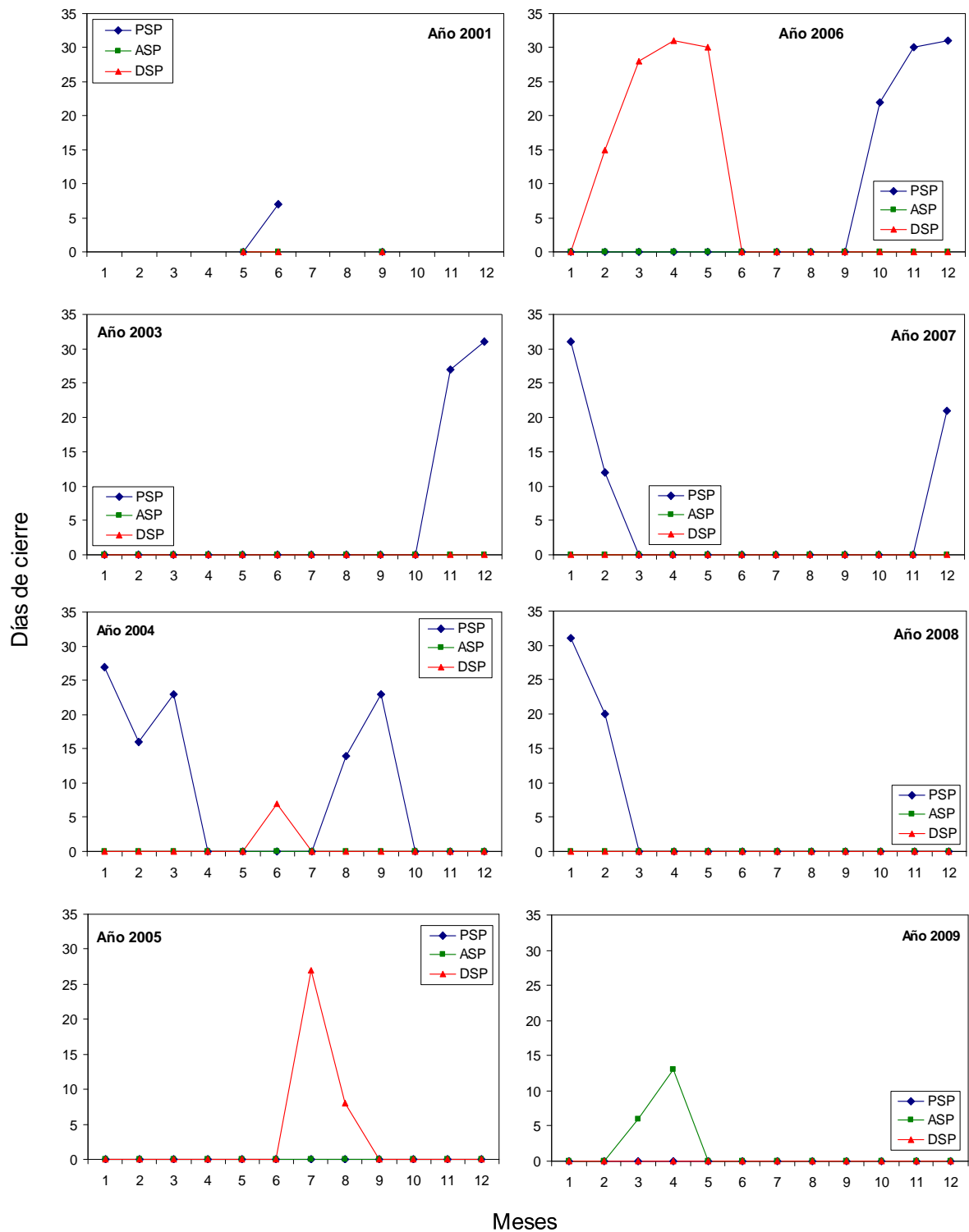


Figura 6.52 Incidencia anual (días de cierre al mes) biotoxinas PSP, DSP y ASP en la instalación de La Línea de la Concepción. Fuente: E.P. DAP



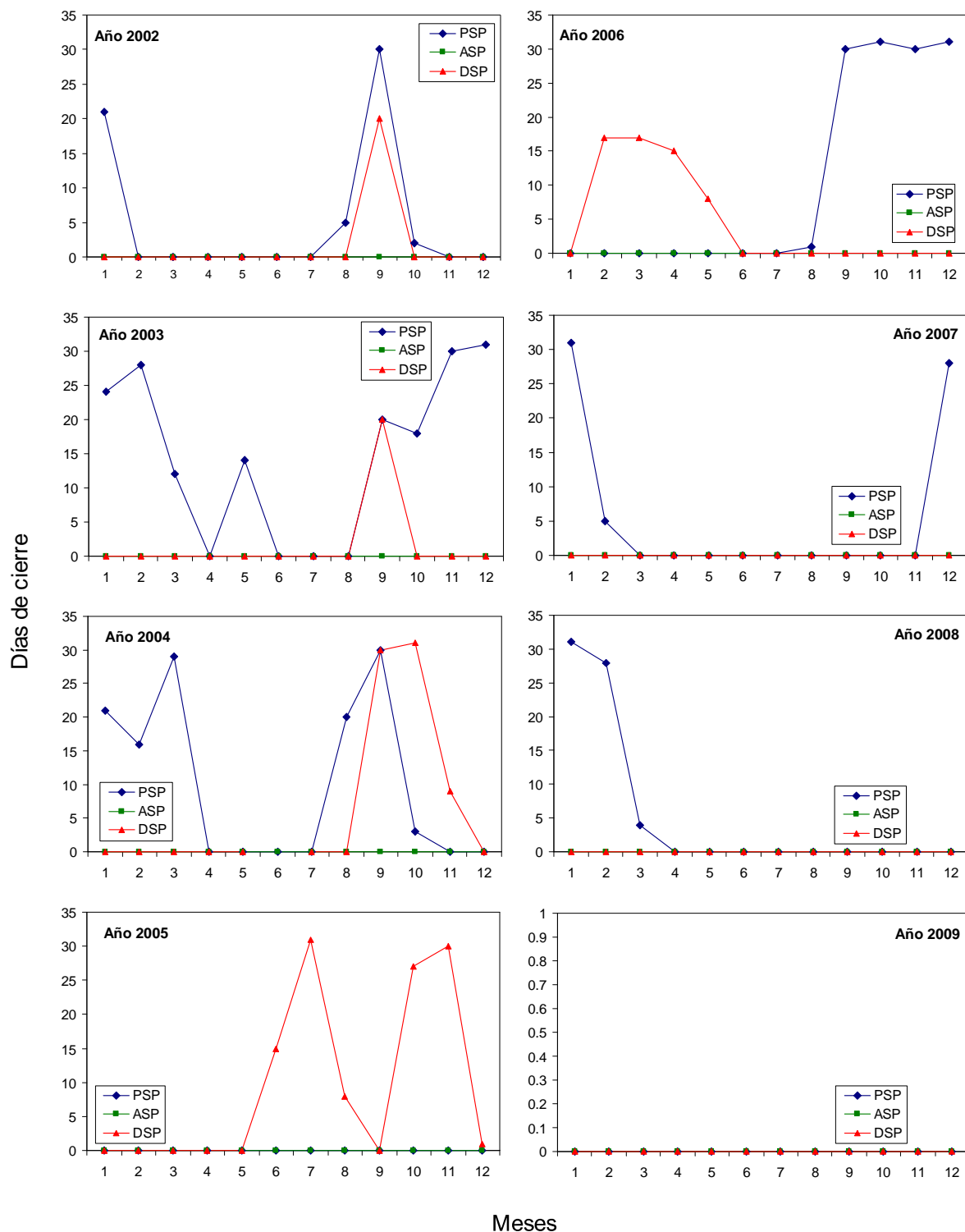
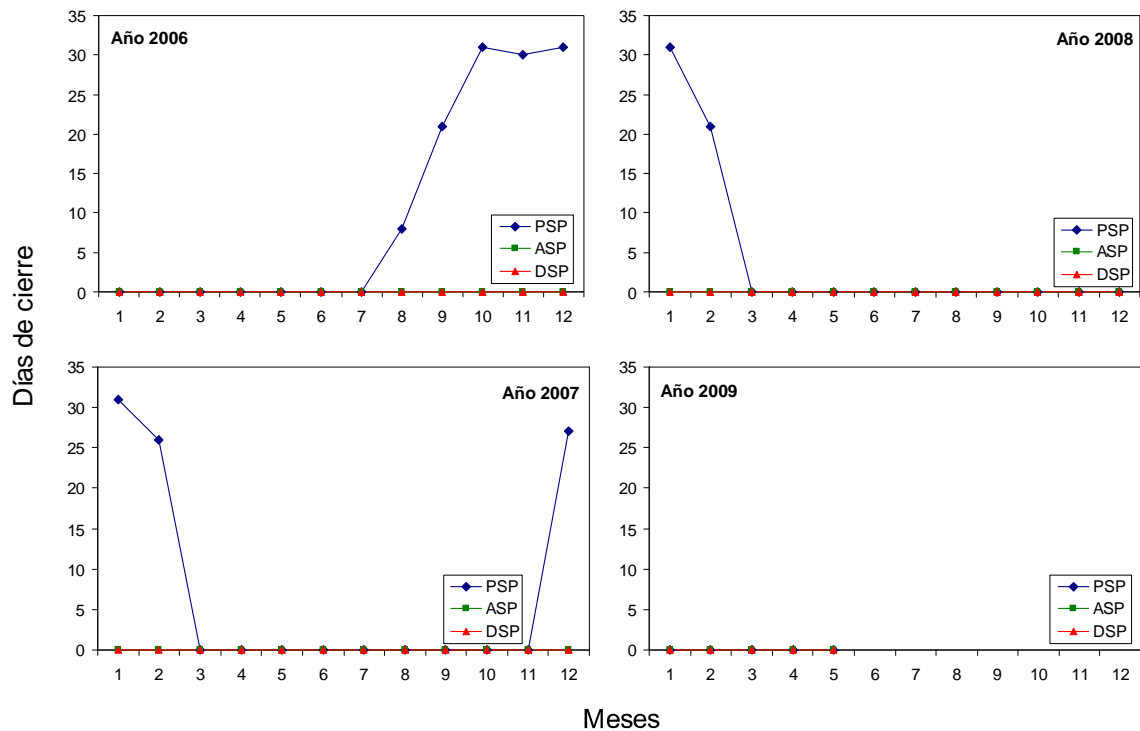


Figura 6.53 Incidencia anual (días de cierre al mes) biotoxinas PSP, DSP y ASP en la instalación de Marbella. Fuente: E.P. DAP



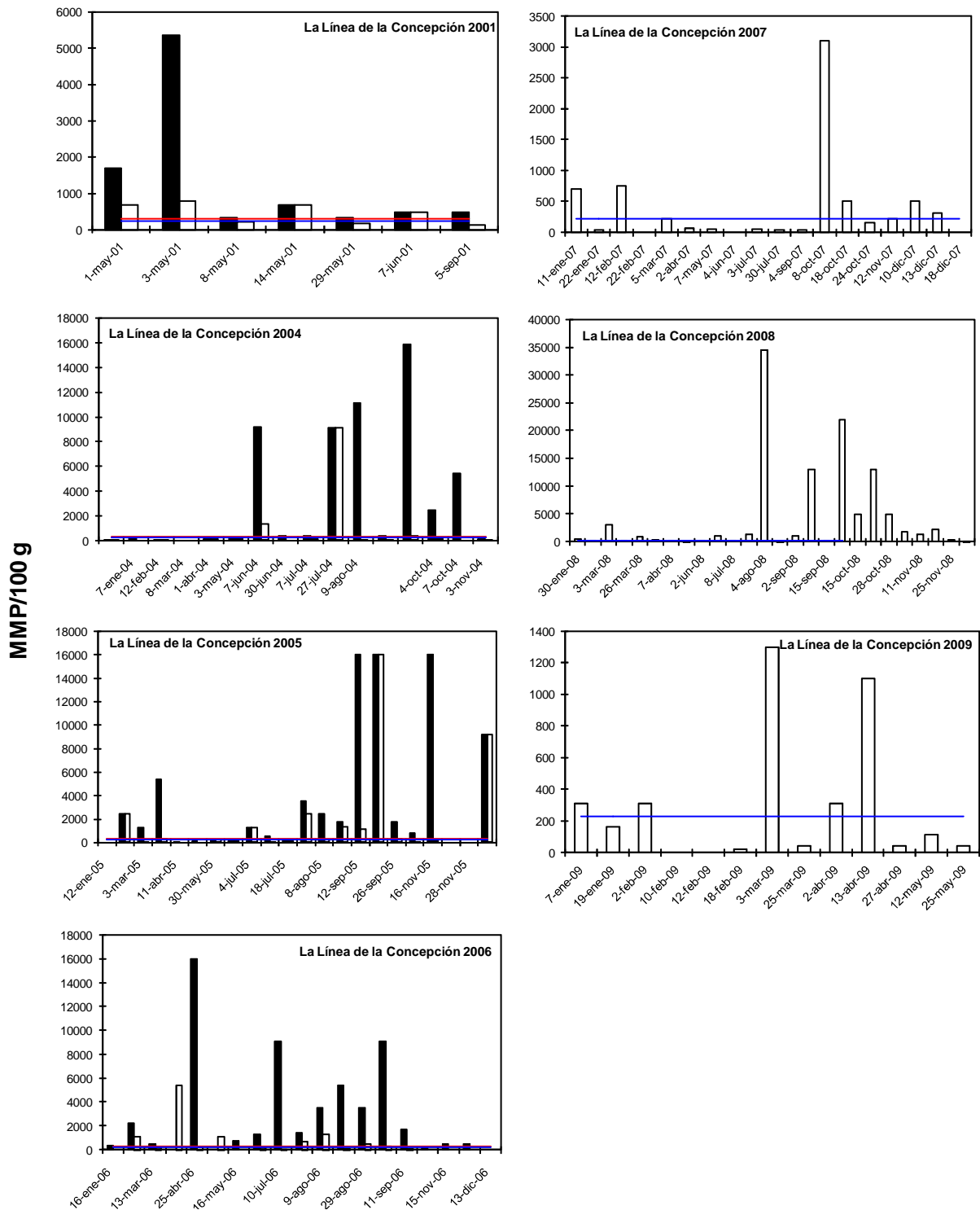
**Figura 6.54** Incidencia anual (días de cierre al mes) biotoxinas PSP, DSP y ASP en la instalación de Caleta de Vélez.  
Fuente: E.P. DAP

Si bien esta línea de actuación está enfocada al análisis de la incidencia de las biotoxinas en el cultivo del mejillón, el Laboratorio de Control de Calidad de los Recursos Pesqueros también lleva a cabo análisis microbiológicos en las instalaciones de cultivo.

En ellos se analizan los niveles de coliformes fecales, E. coli y Salmonella, aunque desde 2007 los dos primeros parámetros se consideran de manera conjunta. La incidencia de la contaminación microbiológica en el mejillón es diferente según el parámetro evaluado. La superación de los niveles legales por coliformes y E. Coli se produce de manera más frecuente que los positivos por Salmonella.

De hecho, los registros entre 2001 y 2009 (Figuras 6.55, 6.56, 6.57 y 6.58) muestran positivos en todos los años analizados. En la Línea de la Concepción estos episodios han sido más intensos entre los años 2004 y 2006, así como en 2008, especialmente en verano y otoño, con valores muy por encima de los niveles permitidos. En Marbella la ocurrencia de estos procesos contaminantes ha sido menor, especialmente desde 2007, con concentraciones más pequeñas y dispersas en el tiempo. En Caleta de Vélez los positivos son menos numerosos que en el resto, y se centran principalmente en verano y otoño.

Los positivos por Salmonella han sido mucho más escasos y con una duración más reducida (Figura 6.58) en todas las instalaciones, centrándose en otoño y comienzos de año principalmente.



**Figura 6.55** Distribución temporal de las concentraciones de coliformes fecales (negro) y E. coli (blanco) en la instalación de La Línea de la Concepción. Las líneas roja y azul indican los límites legales permitidos para coliformes y E. coli respectivamente. **Fuente:** E.P. DAP

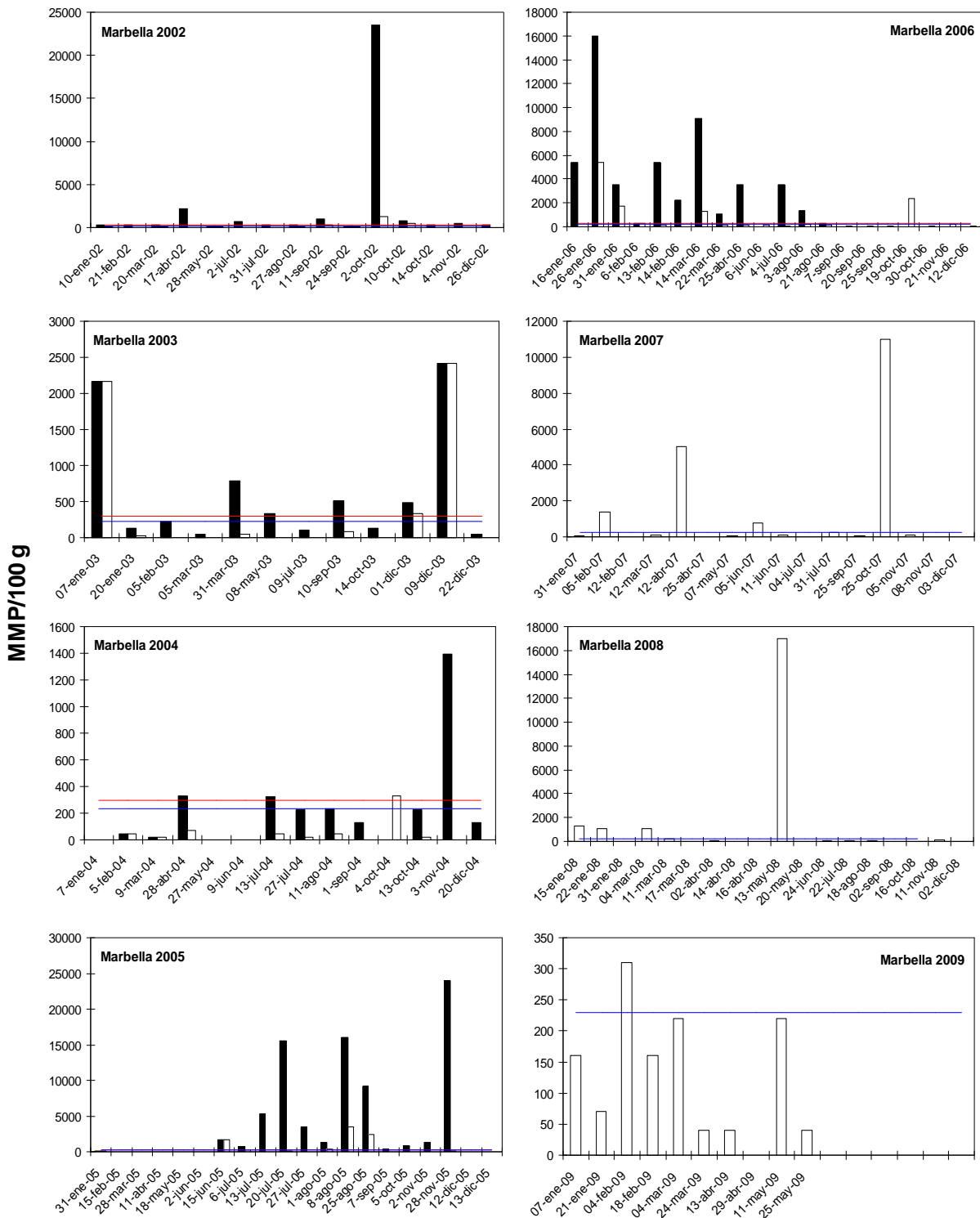


Figura 6.56 Distribución temporal de las concentraciones de coliformes fecales (negro) y E. coli (blanco) en la instalación de Marbella. Las líneas roja y azul indican los límites legales permitidos para coliformes y E. coli respectivamente. Fuente: E.P. DAP



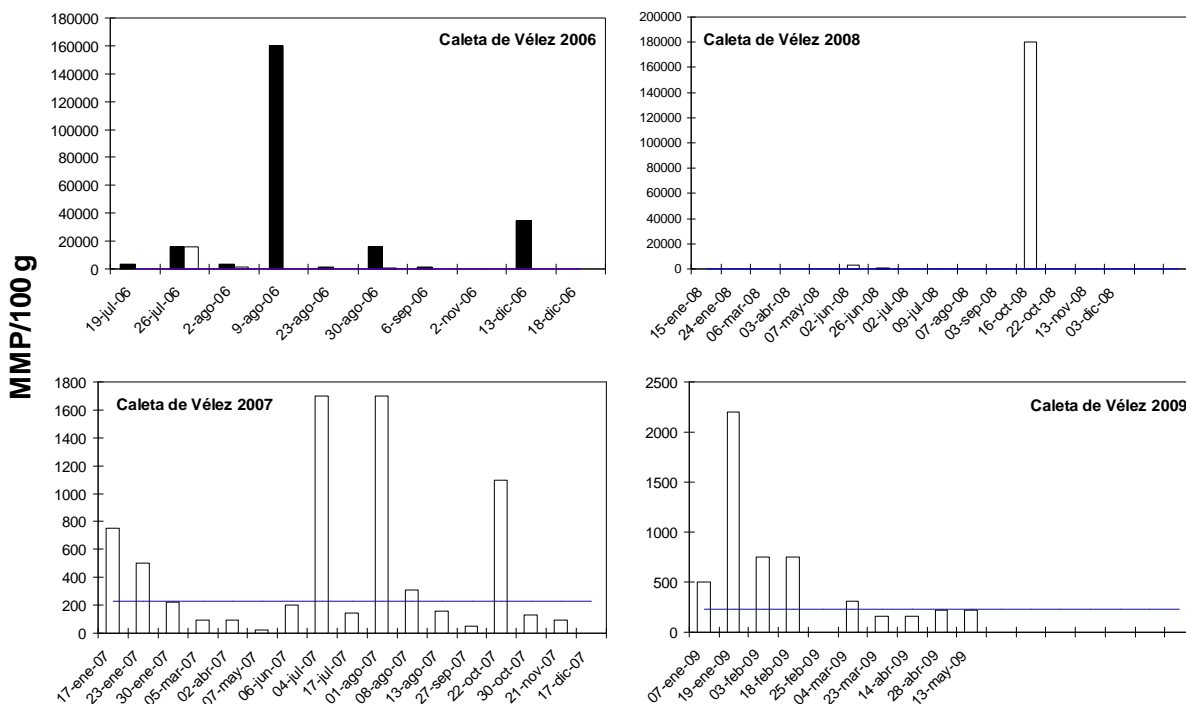


Figura 6.57 Distribución temporal de las concentraciones de coliformes fecales (negro) y E. coli (blanco) en la instalación de Caleta de Vélez. Las líneas roja y azul indican los límites legales permitidos para coliformes y E. coli respectivamente. Fuente: E.P. DAP

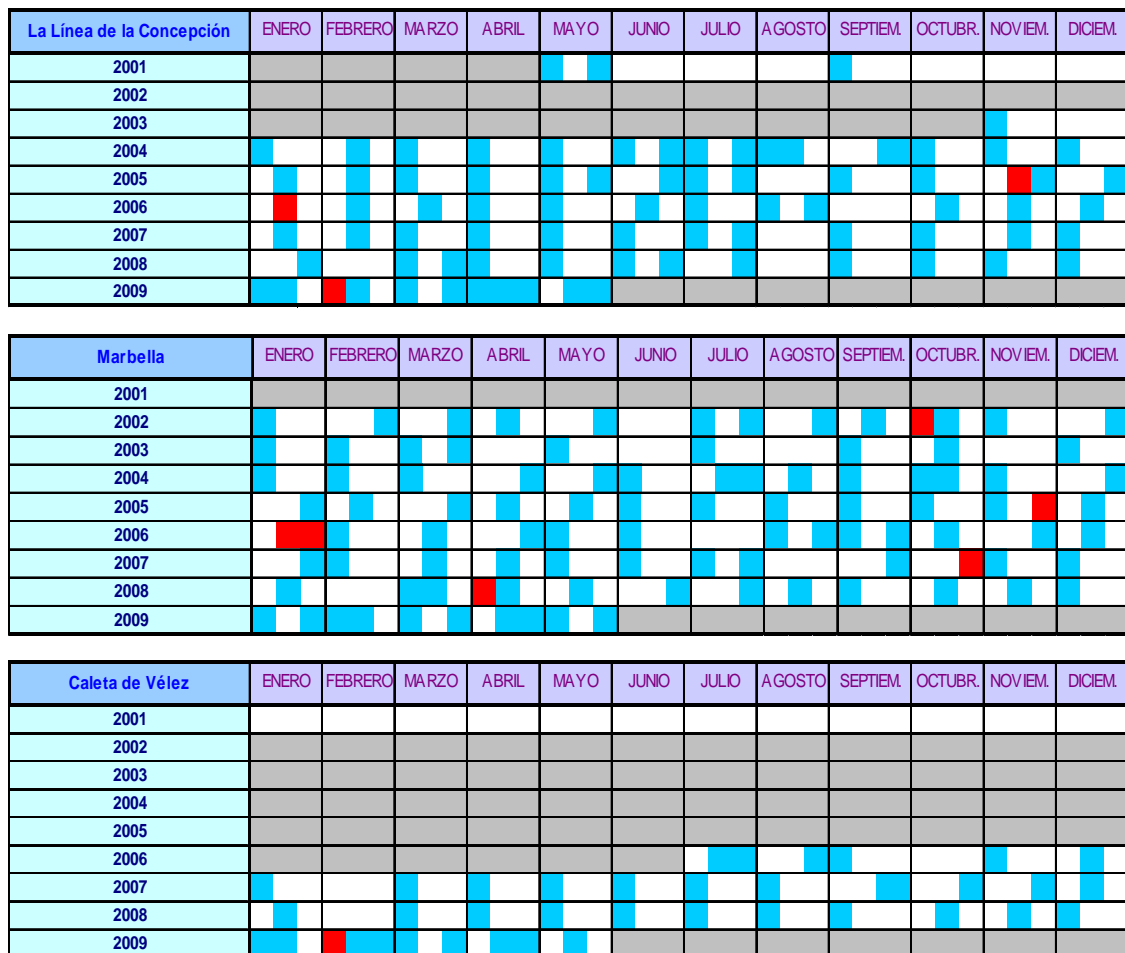


Figura 6.58 Distribución temporal de los niveles de Salmonella en las tres instalaciones estudiadas. El color azul indica análisis negativo, el rojo corresponde a resultado positivo y el blanco a ausencia de análisis. Fuente: E.P. DAP

El mejillón es un claro indicador biológico de la contaminación microbiológica y por biotoxinas. Su mayor exposición al agua y el carácter filtrador de esta especie la hace especialmente sensible a la acumulación de toxinas y microorganismos. Por ejemplo es especialmente susceptible a la presencia del dinoflagelado *G. cantenatum*, uno de los principales productores de toxina tipo PSP, por lo que es una importante herramienta para estimar la próxima incidencia de dicho organismo fitoplanctónico en otros recursos existentes en la misma zona.

Nuestros resultados muestran la elevada variabilidad espacial y temporal de ocurrencia de los episodios tóxicos por biotoxinas. El análisis estadístico de los registros de contaminación pone de manifiesto la ausencia de relación clara con las variables ambientales tales como temperatura o salinidad, si bien algunas especies como *Pseudo-nitzschia* suelen aparecer asociadas a elevadas concentraciones de nutrientes. Esta circunstancia refleja la dificultad para identificar posibles patrones espaciales y, especialmente, temporales de ocurrencia de estos



episodios tóxicos, de manera que sea posible predecir su ocurrencia e incidencia en los recursos marisqueros y en especial en el cultivo del mejillón.

Sin embargo, el análisis conjunto de la serie temporal de datos disponible permite obtener unos patrones de variabilidad promedios, que ponen de manifiesto el carácter estacional de la incidencia de estos procesos contaminantes (Figura 6.59). En ellos es posible apreciar el diferente impacto ocasionado por las distintas toxinas en cada una de las instalaciones de cultivo estudiadas.

En todas ellas la toxina PSP es la mayor causante de vedas en la producción, con una importante variación estacional. Su incidencia es máxima, con valores cercanos al 60% de los días, en los meses finales del año, disminuyendo a lo largo de la primavera. En verano su impacto es prácticamente inexistente, si bien al final del mismo se produce un aumento de estos episodios que continúa hasta el invierno.

Por su parte, la toxina DSP presenta una incidencia más continuada a lo largo del año, con dos periodos más intensos, si bien estos son más variable entre zonas. En La Línea de la Concepción los cierres por DSP son menos frecuentes durante el otoño y comienzos del invierno, aunque a partir de enero se observa un aumento en el número de episodios que provocan hasta un 20% de días de cierres a mediados de la primavera. Posteriormente, su incidencia disminuye hasta principios de verano, momento en el que aumenta hasta alcanzar otro máximo a mediados del periodo estival. Desde este momento y hasta finales de verano su impacto disminuye hasta alcanzar valores mínimos. En la instalación de Marbella el patrón de incidencia de esta toxina es similar al descrito anteriormente, aunque se observa un tercer periodo de incidencia en otoño. Estos resultados contrastan con el obtenido en Caleta de Vélez, donde las toxinas DSP no han tenido incidencia significativa durante el periodo 2006-2009.

Finalmente, nuestros registros indican una incidencia muy baja, casi inexistente, de la toxina ASP sobre el cultivo del mejillón en nuestra región. De hecho únicamente en marzo y abril de 2009 se han detectado niveles por encima de los límites legales, en La Línea de la Concepción y Marbella. En cualquier caso, la duración de dicho episodio ha sido corta.

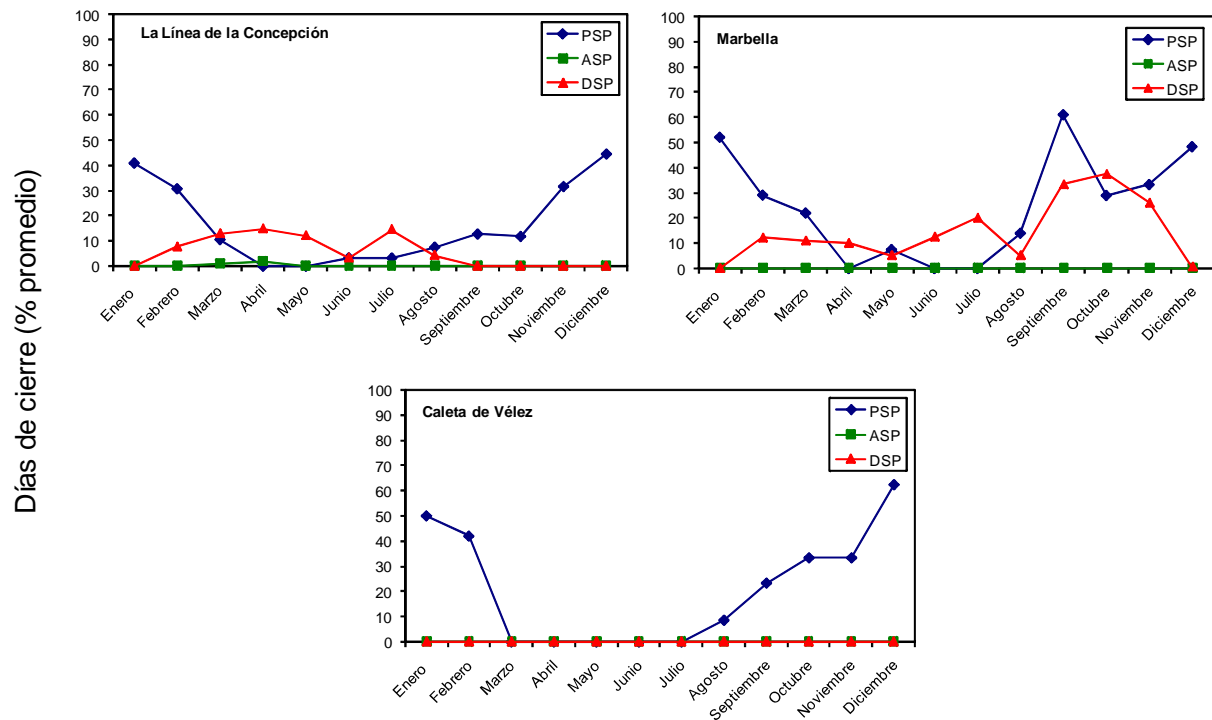


Figura 6.59 Incidencia temporal (% días promedio) de las toxinas PSP, DSP y ASP en las tres instalaciones. Fuente: E.P. DAP

Nuestros resultados contrastan con los descritos en la región gallega, donde los niveles de producción y por tanto el impacto de las toxinas es más elevado. En dicha zona la principal toxicidad responsable de los cierres de zonas de producción es la de tipo diarreico (DSP), seguida con niveles claramente menores por la de tipo paralizante (PSP). Al igual que en Andalucía, los niveles de la toxina ASP causan un menor impacto, dado que el mejillón presenta una elevada tasa de depuración de este tipo de Toxinas (Blanco y col., informe CULMITES 2008).

Estos autores describen también una cierta estacionalidad en la incidencia de estas toxinas, que si bien es similar a la descrita en nuestro análisis presenta ciertas diferencias. La DSP muestra una época principal de ocurrencia entre verano y otoño. Además de en invierno, como en la región andaluza, la PSP presenta una elevada incidencia hacia el final de la primavera y principio de verano. Por último, la ASP presenta una mayor frecuencia en primavera y otoño.

El análisis descrito anteriormente sugiere una mayor incidencia de las toxinas al inicio y final de año en la zona central (Marbella) de la región estudiada, probablemente como consecuencia de las condiciones de crecimiento para el fitoplancton que determina la circulación existente en la zona. Este resultado es coherente con los descritos en las rías gallegas, donde las zonas más afectadas por las toxinas suelen ser aquellas donde la velocidad de crecimiento es mayor (Blanco y col., informe CULMITES 2008).

Asimismo, la diferencia temporal de ocurrencia de estos episodios motiva que los periodos de mayor incidencia de una toxina se solapen con los de la otra, y viceversa. A este hecho hay que sumar los positivos producidos por contaminación microbiológica, que puede suponer un incremento el día de cierres de los polígonos de cultivo. Esta circunstancia sugiere por tanto un elevado impacto de los episodios tóxicos sobre el cultivo del mejillón, ya que pueden llegar a motivar el cierre de la instalación durante un prolongado periodo de tiempo.

En cualquier caso, hay que destacar de nuevo la elevada variabilidad natural de estos procesos y que el análisis descrito anteriormente se basa en valores promedio. Sus conclusiones no implican por tanto la imposibilidad de ocurrencia de estos episodios de manera más o menos prolongada en épocas diferentes a las descritas anteriormente, o bien la ausencia de episodios tóxicos en épocas en las que tradicionalmente son abundantes. De hecho, nuestros registros muestran la alternancia de años de fuerte impacto de estos episodios (como 2003 y 2006) y otros de escasa incidencia (2008 y comienzos de 2009).

Es por tanto arriesgado establecer la menor o mayor incidencia de los episodios tóxicos sobre el cultivo del mejillón en la costa andaluza en comparación con otras zonas de producción como Galicia. De hecho, el análisis de la relación entre la producción de mejillón en Andalucía y los cierres por toxinas (Figura 6.60) no permite extraer ninguna conclusión clara, dado los bajos niveles de producción en comparación con la citada región gallega. En esta última, Blanco y colaboradores (informe CULMITES 2008) han observado como los periodos de cierre llevan consigo una notable reducción de la producción, provocando incluso el desplazamiento temporal de las épocas de mayor explotación del mejillón.

En cualquier caso el impacto de los episodios tóxicos sobre la explotación del mejillón es importante en cualquier zona e inherente al medio natural, por lo que es difícil proponer estrategias para mitigar sus efectos.

Entre estas, se ha propuesto el reparqueo, es decir, el traslado de la producción a otras zonas no tóxicas durante la ocurrencia de los episodios tóxicos, como una posible alternativa al cierre de las instalaciones. Si bien el análisis de esta posibilidad se había incluido originalmente en el proyecto, finalmente no ha podido llevarse a cabo. De hecho, razones de carácter técnico y logístico (como la necesidad de disponer de polígonos alternativos y formas rápidas y eficientes de transporte del producto), así como algunos motivos administrativos impiden la posible puesta en marcha de estas estrategias en nuestra región.

En concreto, como se ha indicado anteriormente, la normativa vigente prohíbe la manipulación del mejillón durante la ocurrencia de episodios tóxicos, por lo que el reparqueo exigiría cambios normativos en nuestra comunidad. Finalmente, desde el sector productor se ha propuesto la posibilidad de establecer algún tipo de ayudas para paliar los efectos de las toxinas en el cultivo del mejillón.

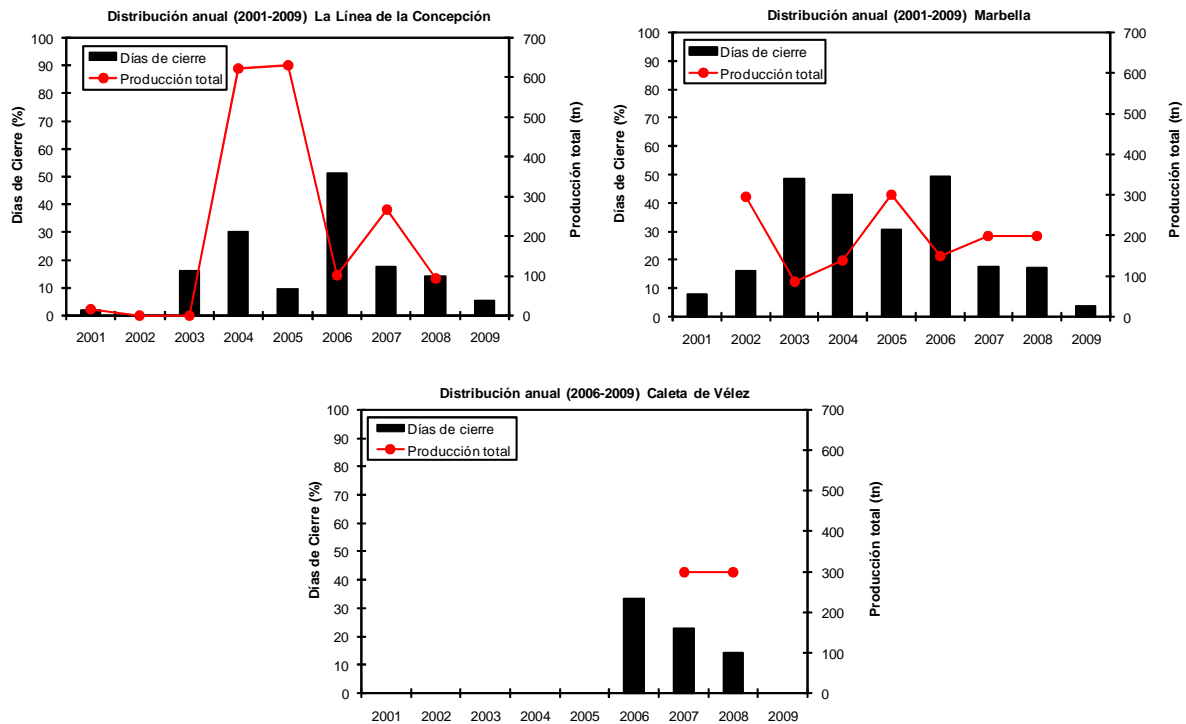


Figura 6.60 Relación entre la incidencia temporal (% días promedio) de las toxinas y la producción en las tres instalaciones. Fuente: E.P. DAP

### 6.6 Evaluación de la compatibilidad del cultivo de mejillón con otras actividades de cultivo en mar abierto.

Los resultados del breve estudio de interacción mejillón con granjas de cultivo de peces marinos, ha tenido buena acogida entre las empresas participantes. De las ocho empresas a las que se envió encuesta han respondido cinco, teniendo en cuenta del cese de actividad de una de las que no ha respondido, supone el 62.5% de participación. Todas ellas presentan fijación de mejillón en sus estructuras en mayor o menor medida.

Atendiendo a los distintos apartados, los resultados son los siguientes:

#### ❖ Identificación y Valoración del Problema:

El 80% de los encuestados considera que la afección es grave o muy grave. El 20% restante la considera leve.

En general la fijación se produce desde la superficie hasta los 30 m de profundidad en algunos casos. Los puntos de fijación se distribuyen por toda la estructura. Los más afectados son las estachas y redes en un 27.5%. Seguido de; las boyas y aros de flote de las jaulas en un 20% y 15% respectivamente. El 10% restante afecta a otras estructuras con un 25%.

La época de fijación se centra principalmente en los meses de verano, aunque en el caso de la instalación ubicada en el extremo nor-oriental de la provincia de Almería se produce en los meses de invierno.

En cuanto a los problemas derivados de la fijación de mejillón, existe coincidencia en las apreciaciones de los encuestados. Los más generalizados son; el aumento de peso de las jaulas y la rotura de redes y estachas. Indirectamente supone también un riesgo para los trabajadores, además de una posible reserva de patógenos y procesos infecciosos.

❖ **Análisis del entorno:**

La distancia mínima a la que se encuentra una instalación de cultivo de mejillón y otra de jaulas, es de 16 millas. En general todas las instalaciones, menos la ubicada en Conil, tienen zonas de fijación cercanas, ya sean rocas del litoral o espigones de puertos. Si bien, y en consonancia con observaciones propias y de otras fuentes, la fijación en el litoral mediterráneo andaluz, disminuye de poniente a levante coincidiendo con la producción primaria de las zonas.

❖ **Contramedidas:**

En el apartado de posibles soluciones a la afección por mejillón, sólo se contemplan aquellas relacionadas con la gestión de limpieza y cambio de redes. De hecho, la frecuencia de limpieza detectada en todas las instalaciones es de carácter **trimestral** y supone una gran dedicación por parte del personal asignado. La valoración del coste añadido, no está calculado, pero se asume que es alto, al menos en tiempo y esfuerzo. Otra medida disuasoria es la utilización de materiales lisos en la estructura, como fundas de plástico para los cables y estachas.

Por último, en cuanto a la consideración de una alternativa de negocio, la visión de los encuestados es diversa; En líneas generales se plantea el aprovechamiento del recurso, el cual puede alcanzar hasta 15 Tm al trimestre, pero explotado por terceros, no como otra de las actividades propias de la empresa. En el caso de venta propia, se encuentran problemas de autorizaciones para acceder al mercado. No descartan la posibilidad de recolección de semilla para productores de mejillón si bien, revisando el precio de la semilla.



## **CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS**

---





## 7. CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

El subproyecto de Andalucía del Plan Nacional JACUMAR “Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad” se inicia a comienzos del año 2007 y concluye a finales de 2009. En él, se han desarrollado cinco líneas de actuación dirigidas a avanzar en el conocimiento del cultivo de mejillón en la costa andaluza con el fin de optimizar el desarrollo de este cultivo.

El éxito y el valor añadido del proyecto respecto a estudios anteriores ha radicado en los siguientes aspectos:

- Contacto directo con el sector: todos los trabajos, incluyendo el planteamiento de los mismos, se han llevado a cabo conjuntamente con las empresas de cultivos de mejillón existentes en el litoral mediterráneo andaluz, todo ello formalizado a través de un convenio de colaboración. Dichas empresas cuentan con más de 3 años de experiencia en la zona, lo cual ha permitido adaptar los trabajos y técnicas de análisis a las necesidades de los productores, favoreciendo así el desarrollo del proyecto.
- Series temporales de muestreos más prolongadas y con mayor resolución, cubriendo ciclos de cultivo completos, disminuyendo así la variabilidad e incertidumbre en la interpretación de los datos.
- Visión global del entorno teniendo en cuenta y contrastando con información y datos concretos procedentes de otros trabajos realizados en las zonas de estudio. Se ha llevado a cabo una labor de búsqueda, recopilación e integración de información y datos concretos procedentes de estudios propios y ajenos a la Empresa. Esto ha aportado más fiabilidad a los resultados, permitiendo contrastar datos a distintos niveles, para alcanzar conclusiones más acordes con la realidad del entorno.

Entre otros trabajos, cabe destacar el desarrollo de campañas de muestreo mensuales en tres de las instalaciones de cultivo autorizadas en Andalucía, situadas en las localidades de La Línea de la Concepción (Cádiz), Marbella y Caleta de Vélez (Málaga), con la finalidad de conocer datos biológicos y técnicos relacionados con el cultivo del mejillón mediante diferentes sistemas de cultivo y áreas geográficas.

Se han analizado aspectos como el crecimiento de la semilla y la evolución de los índices de condición, así como la influencia de diversos factores ambientales (tales como abundancia fitoplanctónica, temperatura, turbidez y condiciones hidrodinámicas), que puedan afectar al crecimiento, supervivencia y rendimiento de la especie en cultivo.

En primer lugar, los resultados obtenidos han puesto de manifiesto un patrón de crecimiento estacional, asociado a aguas frías y ricas en nutrientes, con ciclos de cultivo de **12 a 16 meses**. Su duración es mayor a medida que la producción se desarrolla más al este, es decir más alejados del estrecho. En cuanto al índice de condición que determina el rendimiento en carne, los valores medios calculados son de un **15%**, oscilando en distintas épocas y localizaciones, todo ello relacionado con unas características hidrodinámicas fuertemente condicionadas por el patrón de circulación regional y la presencia de afloramientos costeros.

Desde el punto de vista de los productores, dicho rendimiento es considerado como óptimo, teniendo en cuenta las condiciones de la zona de estudio.

En segundo lugar, se han identificado y cartografiado las zonas óptimas para el cultivo de mejillón en las costas de Andalucía, atendiendo a factores ambientales, como temperatura, niveles de producción primaria, y batimetría. El mapa resultante del análisis de imágenes satélite, aporta información coincidente con los datos y observaciones propias del estudio y



pone de manifiesto la coincidencia entre las ubicaciones de las instalaciones existentes y las zonas consideradas como óptimas para el desarrollo del cultivo de mejillón. Al mismo tiempo, ofrecen otras posibilidades de emplazamientos en todo el litoral andaluz.

En tercer lugar, y con la finalidad de conocer la potencialidad de la fijación de semilla en las propias instalaciones como recurso para el abastecimiento de las mismas, se han desarrollado actuaciones relacionadas con la determinación de patrones de fijación, así como la evaluación de métodos de obtención de semilla.

De este modo se ha constatado la presencia de semilla a lo largo del año, así como una elevada variabilidad temporal de los procesos de fijación. En cualquier caso, se ha observado un periodo de fijación más significativa y con niveles suficientes para el aprovisionamiento principalmente entre mediados de primavera y comienzo del verano. Asimismo, los episodios de fijación muestran una elevada variabilidad espacial con incrementos de la densidad de captación de semilla de este a oeste de la zona mediterránea y en profundidad. Esta circunstancia permite sugerir como estrategia de captación la colocación de cuerdas colectoras en las instalaciones a principios de primavera y preferiblemente en profundidad, para incrementar así la eficiencia en la captación de semilla.

En cuarto lugar, y con el fin de determinar el grado de aparición, frecuencia e intensidad de los episodios de contaminación por biotoxinas en las poblaciones cultivadas, se ha desarrollado un análisis de los datos obtenidos del control y seguimiento de las condiciones sanitarias en las zonas de producción de moluscos bivalvos (en el periodo 2000-2009).

A partir de dicho análisis, se ha detectado una amplia variabilidad en los procesos tóxicos, con mayor incidencia en toxinas PSP, seguidas de DSP y una escasa ocurrencia de procesos de ASP. Asimismo comentar una tendencia estacional de toxina PSP en invierno y DSP en primavera y verano.

En cualquier caso, si bien resulta difícil proponer estrategias para la minimización de los impactos asociados, sigue siendo de gran interés continuar con el análisis de los datos y el seguimiento de los episodios con vistas a profundizar en los patrones temporales y espaciales que rigen dichos procesos tóxicos.

Por último y para determinar la compatibilidad del cultivo del mejillón con otros sistemas de cultivo en mar abierto, se ha llevado a cabo un sondeo basado en encuestas dirigidas a empresas de cultivos marinos de peces en mar abierto.

Este breve estudio cualitativo de la interacción del mejillón con cultivos marinos en jaula, pone de manifiesto la existencia de un problema que afecta a todas las instalaciones de jaulas independientemente de que existan cultivos de mejillón cercanos. La proliferación de esta especie de carácter sésil en las estructuras, supone un inconveniente y obliga a un mantenimiento y limpieza constante. Se piensa que la ubicación de granjas en las inmediaciones supondría un incremento de la afección. Sin embargo, estudios que determinen el comportamiento de las masas de agua y corrientes predominantes, además de la distribución de larvas de mejillón, podrían ayudar a ubicar unas instalaciones respecto de las otras y buscar sinergias que aporten en ambos sentidos.

Otras consideraciones derivadas del estudio y basadas en la observación directa e interacción con los productores, son las referidas a la depredación de la semilla, la fijación y acumulación de epibiontes en los individuos de talla comercial y las estructuras de cultivo.

La primera de las cuestiones es un aspecto común a otras regiones y supone un grave problema que afecta directamente al aprovisionamiento de semilla. La depredación por parte de poblaciones de peces que coexisten en la zona resulta difícil de controlar y tiene

además un efecto multiplicador a medida que aumenta la producción. El control de la depredación es por tanto un tema prioritario a estudiar a corto plazo.

En cuanto a la fijación de epibiontes, es un problema que afecta directamente a los costes de producción dado que es necesario la limpieza y retirada de todo tipo de organismo fijado a la concha. Esta circunstancia además del incremento de los costes, afecta directamente a la presentación del producto, ya que juega un papel fundamental de cara a la comercialización.

Las estructuras de cultivo utilizadas; bateas y long-line en este caso, es otro aspecto clave en el desarrollo de la actividad. El comportamiento de las estructuras en relación a las condiciones oceanográficas del medio en el que se ubican es un factor fundamental que puede afectar en dos sentidos; respecto a las condiciones de seguridad en el trabajo y el riesgo de pérdida de producción. En el primer caso, se considera necesario una mejora en el diseño de las bateas que permitan trabajar con más seguridad, evitando posibles accidentes. En el segundo caso, se ha podido comprobar que este tipo de estructuras, sobre todo en la zona cercana al estrecho, sufren pérdidas de producción e incluso deriva de toda la estructura.

Por último, a modo de conclusión final, se puede considerar que el proyecto ha cumplido con los objetivos previstos, reforzando la hipótesis inicial de la viabilidad del cultivo de mejillón en Andalucía. Así, cuenta con un conocimiento más detallado y acorde con la realidad, y se sugieren aspectos relacionados con el cultivo que aun necesitan revisión y estudios más detallados, tales como el control de la depredación, fijación de epibiontes y diseño de estructuras de cultivo,. Finalmente, desde los productores se ha puesto de manifiesto un gran interés por la posibilidad de diversificación de especies utilizando infraestructuras ya existentes como medio de optimizar y desarrollar este tipo de cultivo.



## **BIBLIOGRAFÍA**

---



## 8. BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, M.P. 1979. Biología del mejillón (*M. edulis*) de cultivo de la ría de Vigo. Bol. Instituto Español de Oceanografía, 5(3), 107-160.

Alfaro, A.C., and Jeffs, A.G. 2003. Variability in mussel settlement on suspended ropes placed at Ahipara Bay, Northland, New Zealand. *Aquaculture*, 216, 115-126.

Andreu, B. 1958. Sobre el cultivo de mejillón en Galicia: biología, crecimiento y producción. *Industrias Pesqueras*, 745-746, 44-47.

Arin, L., Morán, X.A.G., and Estrada, M., 2002. Phytoplankton size distribution and growth rates in the Alborán Sea (SW Mediterranean): short term variability related to mesoscale hydrodynamics. *Journal of Plankton Research*, 24 (10), 1019-1033.

Babarro, J.M.F., Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U. 2000. Growth of seed mussels (*Mytilus galloprovincialis* LMK): effects of environmental parameters and seed origin. *Journal of Shellfish Research*, 19, 187-193.

Bhattacharya, C.G. 1967. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometries*, 23, 115-135.

Bartsch, M.R., Bartsch, L.A., Gutreuter, S., 2005. Strong effects of predation by fishes on an invasive macroinvertebrate in a large floodplain river. *Journal of the North American Benthological Society*, 24, 168-177.

Cáceres-Martínez, J., Robledo, J.A.F., and Figueiras, A. 1993. Settlement of mussels *Mytilus galloprovincialis* on an exposed rocky shore in Ría de Vigo, NW Spain. *Marine Ecology Progress Series*, 93, 195-198.

Cáceres-Martínez, J. and Figueras, A. 1997. Mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck) settlement in the Ría de Vigo (NW Spain) during a tidal cycle. *Journal of Shellfish Research*, 16 (1), 83-85.

Cáceres-Martínez, J., and Figueras, A. 1998. Distribution and abundance of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae and post-larvae in the Ría de Vigo (NW Spain). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 229, 277-287.

Cano, N., 1978. Resultados de la campaña Alborán 76. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 247, 3-50.

Cano N & JG Lafuente. 1991. Corrientes en el litoral malagueño. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 7(2): 59-77.

Compton, T.J., Rijkenberg, M.J.A., Drent, J., Piersma, T. 2007. Thermal tolerance ranges and climate variability: A comparison between bivalves from differing climates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 352, 200-211.

Crăciun, C. 1980. Effect of high temperatures on the ultrastructure of Leydig Cells in *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Biology*, 60 (2-3), 73-79.

Crooks, J.A., 2002. Predators of the invasive mussel *Musculista senhousia* (Mollusca: Mytilidae). *Pacific Science*, 56, 49-56.

Echevarría, F., Lafuente, J.G., Bruno, M., Gorsky, G., Goutx, M., González, N., García, C.M., Gómez, F., Vargas, J.M., Picheral, M., Striby, L., Varela, M., Alonso, J.J., Reul, A., Cózar, A., Prieto, L., Sarhan, T., Plaza, F., Jiménez-Gómez, F. 2002. Physical-biological coupling in the Strait of Gibraltar. *Deep-Sea Research II*, 49, 4115-4130.



Ferran, E., Treviño, M., Mancebo, M.J., Crespo, C. and Espinosa, J., 1990. Estudio del ciclo gonadal anual en *Mytilus galloprovincialis*: cinética de poblaciones celulares en el manto y reservas bioenergéticas. In: Actas, III Congreso Nacional de Acuicultura, pp. 467-472.

Figueiras, F.G., Labarta, U., Fernández-Reiriz, M.J. 2002. Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the Rías Baixas of Galicia. *Hidrobiología*, 484, 121-131.

Fréchette, M., Butman, CA. and Geyer, W.R. 1989. The importance of boundary-layer flows in supplying phytoplankton to the benthic suspension feeder, *Mytilus edulis* L. *Limnology and Oceanography*, 34, 19-36.

Freeman, K.R., 1974. Growth, mortality and seasonal cycle of *Mytilus edulis* in two Nova Scotian embayments. Department of the Environment, Fisheries and Marine Service, Canada, Technical Report No. 500, 112 pp.

Fréchette, M., Butman, CA. and Geyer, W.R. 1989. The importance of boundary-layer flows in supplying phytoplankton to the benthic suspension feeder, *Mytilus edulis* L. *Limnology and Oceanography*, 34, 19-36.

Freire, J., Fernández, L., González-Gurriarán, E., 1990. Influence of mussel raft culture on the diet of *Liocarcinus arcuatus* (Leach) (Brachyura: Portunidae) in the Ría de Arousa (Galicia, NW Spain). *Journal of Shellfish Research*, 9, 45-57.

Freire, J., González-Gurriarán, E., 1995. Feeding ecology of the velvet swimming crab *Necora puber* in mussel raft areas of the Ría de Arousa (Galicia, NW Spain). *Marine Ecology Progress Series*, 119, 139-154.

Fuentes, J., and Molares, J. 1994. Settlement of the mussel *Mytilus galloprovincialis* on collectors suspended from rafts in the Ría de Arousa (NW of Spain): annual pattern and spatial variability. *Aquaculture*, 122, 55-62.

Fuentes, J., Molares, J., and Villalba, A. 1998. Growth, mortality and parasitization of mussels cultivated in Ría de Arousa (NW of Spain) from two sources of seed: intertidal rocky shore vs. collector ropes. *Aquaculture*, 162, 231-240.

García, C.M., Prieto, L., Vargas, M., Echevarría, F., García-Lafuente, J., Ruíz, J., Rubín, J.P. 2002. Hydrodynamics and the spatial distribution of plankton and TEP in the Gulf of Cádiz (SW Iberian Peninsula). *Journal of Plankton Research*, 24 (8), 817 - 833.

Gil, J. 1985. Consideraciones acerca de un fenómeno de afloramiento en la zona noroccidental del mar de Alborán. Agosto 1982. Informes Técnicos del Instituto Español de Oceanografía, 35.

Guiñez, R., Castilla, J.C. 1999. A tridimensional self-thinning model for multilayered intertidal mussels. *American Naturalist*, 153, 341-357.

Héral, M., Razet, D., Prou, J., 1989. Acquisition de données en continu sur la météorologie particulière de la baie estuarienne de Marennes-Oléron pendant le bloom printanier planctonique: effect sur le taux de filtration de l'huître *Crassostrea gigas*. ICES C. M., K34. 14 pp.

Hickman, R.W. and Illingworth, J., 1980. Condition cycle of the green-lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine Biology*, 60, 27-38.

Jiménez Gómez, F. 1995. Estructura de tamaños y dinámica del ultraplankton en el ecosistema pelágico. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga.

Labarta, U., M. J. Fernández Reiriz, A. Pérez Camacho y E. Pérez Corbacho, 2004. Bateiros, mar, mejillón. Una perspectiva bioeconómica. Serie Estudios Sectoriales. Fundación Caixa Galicia: 262 pp.





Lucas, A., and Beninger, P.G. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44, 187-200.

Macías, J.C., del Castillo, F., Villarías, R.M., y Gaiteiro, J.M. 2005. Zonas de interés para cultivos marinos: identificación y gestión para el desarrollo ordenado de la acuicultura en Andalucía. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 21 (1-4), 47-55.

Mercado, J.M., Ramírez, T., Cortés, D., Sebastián M, and Vargas-Yáñez, M. 2005. Seasonal and inter-annual variability of the phytoplankton communities in an upwelling area of the Alborán Sea (SW Mediterranean Sea). *Scientia Marina*, 69 (4), 451-465.

Morrissey, D.J., Cole, R.G., Davey, N.K., Handley, S.J., Bradley, A., Brown, S.N., Madarasz, A.L. 2006. Abundance and diversity of fish on mussel farms in New Zealand. *Aquaculture*, 252, 277-288.

Page, H.M., and Hubbard, D.M. 1987. Temporal and spatial patterns of growth in mussels *Mytilus edulis* on an offshore platform: relationships to water temperature and food availability. *Journal of Experimental Biological Ecology*, 111, 159-179.

Pérez Camacho, A, González, G. and Fuentes, J. 1991. Mussel culture in Galicia (N.W. Spain). *Aquaculture*, 94, 263-278.

Pérez Camacho, A., Labarta, U., and Beiras, R. 1995. Growth of mussels (*Mytilus edulis galloprovincialis*) on cultivation rafts: influence of seed source, cultivation site and phytoplankton availability. *Aquaculture*, 138, 349-362.

Perez, A. and Roman, G. 1979. Estudio del mejillón y de su epifauna en los cultivos flotantes de la Ría de Arosa. II. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 5( 1), 21-42.

Ramírez, T., Cortés, D., Mercado, J.M., Vargas-Yáñez, M., Sebastián, M., and Liger, E. 2005. Seasonal dynamics of inorganic nutrients and phytoplankton biomass in the NW Alborán Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 65, 654-670.

Ramón, M., Fernández, M., and Galimany, E. 2007. Development of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) seed from two different origins in a semi-enclosed Mediterranean Bay (N.E. Spain). *Aquaculture*, 264, 148-159.

Read, K.R.H., and Cumming, K.B. 1967. Thermal tolerance of the bivalve molluscs *Modiolus modiolus* L., *Mytilus edulis* L., and *Brachidontes demissus* Dillwyn. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 22, 149-155.

Reul, A., Rodríguez, V., Jiménez-Gómez, F., Blanco, J.M., Bautista, B., Sarhan, T., Guerrero, F., Ruiz, J., and García-Lafuente, J. 2005. Variability in the spatio-temporal distribution and size structure of phytoplankton across an upwelling area in the NW-Alboran Sea, (W-Mediterranean). *Continental Shelf Research*, 25, 589-608.

Reul, A., Muñoz, M., Criado-Aldeanueva, F., Rodríguez, V. 2006. Spatial distribution of phytoplankton <math>< 13 \mu\text{m}</math> in the Gulf of Cádiz in relation to water masses and circulation pattern under westerly and easterly wind regimes. *Deep-Sea Research II*, 53, 1294-1313.

Rilov, G., Schiel, D.R., 2006. Seascape-dependent subtidal-intertidal trophic linkages. *Ecology*, 87, 731-744.

Rodríguez, J., Blanco, J.M., Jiménez-Gómez, F., Echevarría, F., Gil, J., Rodríguez, V., Ruiz, J., Bautista, B., Guerrero, F. 1998. Patterns in the size structure of the phytoplankton community in the deep fluorescence maximum of the Alboran Sea (Southwestern Mediterranean). *Deep-Sea Research I*, 45, 1577-1593.



Sarà, G. 1994. Effects of the trophic and environmental conditions on the growth of the *Mytilus galloprovincialis* (LMK. 1819) in open-sea culture in the Gulf of Castellammare (South Tyrrhenian Sea). Ph.D. Dissertation, University of Messina, 101 pp.

Sarà, G., Mazzola, A., 1997. Effects of trophic and environmental conditions on the *Crassostrea gigas* growth in culture. *Aquaculture* 153, 81-91.

Schiel, D.R., 2004. The structure and replenishment of rocky shore intertidal communities and biogeographic comparisons. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300, 309-342.

Sarhan, T., Lafuente, J.G., Vargas, M., Vargas, J.M., and Plaza, F. 2000. Upwelling mechanisms in the northwestern Alborán Sea. *Journal of Marine Systems*, 23 (4), 317-331.

Seed, R., 1976. Ecology. In: B.L. Bayne (Editor), *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 13-65.

Smaal, A.C., & van Stralen, M.R. 1990. Average annual growth and condition of mussels as function of food source. *Hydrobiologia*, 195, 179-188.

Stirling, H.P., and Okumus, I. 1995. Growth and production of mussels (*Mytilus edulis* L.) suspended at salmon cages and shellfish farms in two Scottish sea lochs. *Aquaculture*, 134, 193-210.

Tenore, K.R., Boyer, L.F., Cal, R.M., Corral, J., Garcia-Fernandez, C., Gonzalez, N., Gonzalez-Gurriaran, E., Hanson, R.B., Iglesias, J., Krom, M., Lopez-Jamar, E., McClain, J., Pamatmat, M.M., Perez, A., Rhoads, D.C., de Santiago, G., Tietjen, J., Westrich, J., Windom, H.L., 1982. Coastal upwelling in the Rias Bajas, NW Spain: contrasting the benthic regimes of the Rias de Arosa and de Muros. *Journal of Marine Research*, 40, 701-772.

Tintoré, J., La Violette, P.E., Blade, I., and Cruzado, A. 1988. A study of an intense density front in the eastern Alborán Sea: The Almeria-Oran Front. *Journal of Physical Oceanography*, 18 (10), 1384-1397.

Tirado, C. y Macias, J.C. 2006. Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca.

Villalba, A., 1993. Estrategias reproductoras del mejillón, *Mytilus galloprovincialis*, cultivado en las Rías de Vigo, Arosa, Muros y Ares-Betanzos (Galicia, NO. de España). In: A. Cerviño, A. Landin. A. de Coo, A. Guerra and M. Torre (Editors), *Actas del IV Congreso Nacional de Acuicultura*, 2 I-24 September, Illa de Arousa, Galicia, Spain, pp. 329-334.

Villalba, A. 1995. Estudio de la Marteliasis del mejillón. Efectos de esta enfermedad en el mejillón cultivado en las rías gallegas. Ed. Xunta de Galicia. ISBN:84-453-1497-139 pp.

Villalba, A. 1995. Gametogenic cycle of cultured mussel, *Mytilus galloprovincialis*, in the bays of Galicia (NW Spain). *Aquaculture*, 130, 269-277.

Viúdez, A., Tintoré, J., and Haney, R.L. 1996. Circulation in the Alboran Sea as determined by quasi-synoptic hydrographic observations. Part I: Three dimensional structure of the two anticyclonic gyres. *Journal of Physical Oceanography*, 26, 684-705.

Walter, U., Liebezeit, G., 2003. Efficiency of blue mussel (*Mytilus edulis*) spat collectors in highly dynamic tidal environments of the Lower Saxonian coast (southern North Sea). *Biomol. Eng.* 20, 407-411.

Zandee, D.I., Kluytmans, J.H., Zurburg, W., and Pieters, H. 1980. Seasonal variations in biochemical composition of *Mytilus edulis* with referente to energy metabolism and gametogenesis. *Netherland Journal of Sea Research*, 14, 1-29.







# ANEXO IV

**JACUMAR**  
**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

**INFORME FINAL BALEARES**

**Título: Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad**

## **INFORME FINAL EXTENSO**

### **1.- DATOS ADMINISTRATIVOS**

**TITULO: Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad**

### **FECHAS DE REALIZACIÓN**

Inicio: 2007

Finalización: 2010

### **PRESUPUESTO TOTAL EN EUROS**

### **DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO**

Nombre y Apellidos: Dolors Furones Nozal

Organismo/ Centro: IRTA/ Sant Carles de La Ràpita

Departamento:

Teléfono: 977745427

Fax: 977744138

Correo electrónico: dolors.furones@irta.cat

Dirección postal completa: Carretera del Poblenou km 5,5. 43540 Sant Carles de la Ràpita

### **PARTICIPANTES por cada Comunidad Autónoma**

### **CENTROS DE INVESTIGACIÓN**

Tipo de centro: Centro Público de I+D.

Nombre: Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuicultura (LIMIA)

CIF: S-0711001-H

Nombre Representante Legal: Patricia Arbona Sánchez

## DATOS DE LOS INVESTIGADORES

Apellidos: Valencia Cruz,  
Massutí Pascual  
Nombre: José Maria,  
Enrique  
Organismo: Conselleria de Presidencia  
Centro: Dirección General de Pesca  
Departamento:  
Equipo:  
Teléfono: 971672335  
Fax.: 971674240  
Correo electrónico: jmvalencia@dgpesca.caib.es  
Dirección Postal: c/Foners, 10 07006 Palma (Illes Balears)  
Av. Ingeniero Gabriel Roca, 69 07158 Port d'Andratx  
(Illes Balears)

## 2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

### 2.1. OBJETIVOS INICIALES

1. Delimitar varias zonas aptas preferentemente en la zona sur de Menorca, usando la cartografía elaborada en el proyecto: "estudio de los factores que determinan la idoneidad de determinadas zonas del litoral Balear para la instalación de jaulas flotantes".
  - i. Elección de las zonas mediante visita a las localidades previamente determinadas
2. Solicitar ocupación del Dominio Público Marítimo Terrestre
  - i. Elaborar proyecto y realizar el procedimiento administrativo para obtener la concesión de dominio público marítimo-terrestre para instalar las estructuras de cultivo.
3. Instalación de las estructuras de cultivo
  - i. Adquisición y montaje de los tubos de engorde
  - ii. Instalación del sistema de balizamiento
4. Engorde del mejillón
  - i. Adquisición o recolección de semilla de mejillón
  - ii. Instalación de la semilla en cuerdas y/o redes de cultivo
  - iii. Seguimiento del cultivo. Determinación de:
    1. Tiempo de cultivo
    2. Densidad óptima
    3. Efectos de los temporales sobre la estructura y sobre el cultivo
    4. Efectos de especies predadoras sobre el cultivo. Uso de dispositivos antipredación.
    5. Comercialización del producto

### Índices de condición

#### Interoperación aguas abiertas/aguas protegidas

- ✓ Efectos de proliferaciones fitoplanctónicas
- ✓ Efectos de la sedimentación sobre el bentos

## 2.2. OBJETIVOS REALIZADOS

### 1. Delimitación de zonas aptas.

Utilizando la cartografía elaborada en el proyecto: "estudio de los factores que determinan la idoneidad de determinadas zonas del litoral Balear para la instalación de jaulas flotantes", y consultando a los productores de mejillón de Menorca, se seleccionó la cala de Binidali como lugar idóneo para llevar a cabo la experiencia.

Problemas competenciales y organizativos obligaron a cambiar el proyecto de isla. Las posibilidades en Mallorca para una instalación de este tipo son más variadas, optándose por ubicar el proyecto en la bahía de Palma. Se localizaron dos zonas potenciales, una en la zona de cabo Blanco, y otra en cala Viñas.

De estas dos ubicaciones se eligió la de cala Viñas. Esta elección se debió a varias causas. La principal fue la existencia de una concesión de dominio público marítimo terrestre para la instalación de arrecifes artificiales, por lo cual se supuso que se podría realizar la instalación solicitando una ampliación de la concesión para instalar la estructura flotante. También influyó la presencia de una reserva marina en las cercanías de cabo Blanco y finalmente, según las dinámicas de corrientes en la bahía de Palma, la zona del poniente es la que presenta mayor concentración de nutrientes a priori.

### 2. Solicitar ocupación del Dominio Público Marítimo Terrestre

Una vez elegida la zona de ubicación de las estructuras se elaboró el proyecto de instalación (realizado por la empresa VIGO MARINE SL.) y se solicitó a Demarcación de Costas como se podía ampliar el objeto de la concesión (arrecife artificial) para instalar la estructura de engorde.

Desde Demarcación de Costas se informó que era precisa la solicitud de una nueva concesión, no permitiendo que se solicitase como una autorización para la ocupación de dominio público marítimo-terrestre.

Por este motivo se inició un procedimiento de solicitud de concesión de Dominio público marítimo terrestre.

Una vez finalizado el plazo para resolver y notificar se procedió a solicitar periódicamente, por vía telefónica, información sobre la tramitación.

En 2009, vista la inoperancia de la demarcación de Costas y como consecuencia de la reunión de coordinación del proyecto y la obtención de informes sobre la solicitud de autorización de ocupación de dominio público de proyectos en Canarias y Andalucía se solicitó de nuevo la solicitud de autorización. En esta ocasión la directora General y la



Consejera de Agricultura y Pesca tuvieron una reunión con el jefe de la Demarcación de Costas.

La autorización se ha concedido el 13 de septiembre de 2010. Sin embargo, contiene una prescripción sobre la posible presencia de restos arqueológicos. Se ha contratado un arqueólogo especialista en arqueología submarina. Este ha redactado el proyecto de intervención arqueológica, que fue remitido al Consell Insular día 1 de noviembre y fue aprobado en la ponencia técnica del 22 de diciembre de 2010. En estos momentos se está finalizando la intervención arqueológica, cuyos resultados se enviarán de nuevo a la ponencia técnica para la aprobación o no de la instalación del sistema de engorde.

### 3. Instalación de las estructuras de cultivo.

Se han adquirido los “floating pipes”, se han diseñado y adquirido las estructuras de soporte para las redes de protección y todo el material necesario para la instalación de la estructura de cultivo y su balizamiento perimetral. Se encuentran almacenados a la espera del visto bueno de la dirección insular de patrimonio del Consell Insular de Mallorca.

### 4. Engorde del mejillón

#### a. Adquisición o recolección de semilla de mejillón

Se ha obtenido semilla de mejillón, tanto por fijación espontánea a redes de cultivo de peces y boyas, como por la compra a productores de mejillón.

#### b. Instalación de la semilla en cuerdas y/o redes de cultivo.

Dependiendo del origen de la semilla, esta se ha mantenido en la misma red o se han colocado en tubulares de engorde.

#### c. Seguimiento del cultivo. Se han realizado algunas pruebas a escala piloto en cala Viñas y en el puerto de Andratx.

##### i. Efectos de especies depredadoras sobre el cultivo. Uso de dispositivos antipredación.

Se han ensayado con éxito dos sistemas de protección (uno a escala piloto, otro para escala comercial).

##### ii. Comercialización del producto.

Se ha realizado una estimación del precio de primera venta.

##### iii. Intercomparación aguas abiertas/aguas protegidas.

## 2.3. METODOLOGÍA

### 1. Delimitación de zonas aptas.

- Examen de la cartografía de zonas potencialmente aptas para la instalación de jaulas de cultivo de peces.
- Visitas a las zonas preseleccionadas e inmersión para asegurar que el tipo de fondo puede soportar un cultivo de mejillón.

## 2. Solicitar ocupación del Dominio Público Marítimo Terrestre.

- Gestiones para solicitar la ampliación del objeto de la concesión de dominio público marítimo terrestre del arrecife artificial del área de protección de Illetes e isla del Sec (bahía de Palma) incluido en el área de protección de la punta negra y Molinar.
- Elaboración del proyecto técnico de instalación de las estructuras de engorde de mejillón y solicitud de concesión para la ocupación de dominio público marítimo terrestre, según la normativa vigente en la legislación estatal y autonómica. .

## 3. Instalación de las estructuras de cultivo.

Las estructuras de cultivo no se han podido instalar debido a la falta de la concesión/autorización para la ocupación de dominio público marítimo terrestre (pendiente de la de la dirección insular de patrimonio).

El material se encuentra almacenado, a la espera de la aprobación. En cuanto se reciba el visto bueno de la dirección insular de patrimonio se procederá a la instalación.

## 4. Engorde del mejillón

### a. Adquisición o recolección de semilla de mejillón.

Se ha obtenido semilla de mejillón por dos vías diferentes:

- Recolección de semilla fijada en boyas o en redes de cultivo.  
La semilla se despegó de las boyas y se introdujo en tubulares de malla adecuada.  
En el caso de la semilla fijada en bolsas de red, se desmontó la bolsa de red para formar un lienzo de red.
- Comprada a profesionales: en este caso la semilla viene dentro de tubulares de engorde.

### b. Instalación de la semilla en cuerdas y/o redes de cultivo.

En las experiencias de engorde que se han podido realizar se han usado mejillones sobre la misma red de engorde o en tubulares. En el caso de usar tubulares, estos se han colgado directamente de cuerdas de cultivo o se han fijado a las redes de engorde mediante bridas de nilón.

### c. Seguimiento del cultivo.

El año 2008 se procedió a realizar un engorde en las instalaciones del puerto de Andratx y se compararon los resultados con los del engorde en las bateas del puerto de Mahón.

Debido a la falta de autorización para la instalación del sistema de engorde en cala Viñas, durante el año 2009 se realizó una experiencia de engorde a escala piloto. Para ello se instalaron 3 muertos de 40 kg, a los cuales se les sujetó una boya de 30 l, que se mantuvo sumergida a 3 m de profundidad, de las cuales se colgaron tubulares de mejillones.

Durante el año 2010 se ha iniciado un cultivo de mejillón, debido a que se esperaba la aprobación de la autorización de ocupación del dominio público hidráulico. En este momento y a la espera de la finalización del procedimiento administrativo, se mantienen las redes de engorde y los dispositivos antipredación en las instalaciones del LIMIA en el puerto de Andratx.

- Efectos de especies predatoras sobre el cultivo. Uso de dispositivos antipredación.  
Se ha comprobado la acción de predadores y se han diseñado dos sistemas antipredación, ambos ensayados con éxito.
- Comercialización del producto.  
Se ha realizado una estimación del valor del producto basándonos en los precios de primera venta de la lonja de Mahón
- Índices de condición.  
Se han calculado los índices de condición de una muestra de 30 ejemplares en cada muestreo de manera individual.  
Las fórmulas usadas son:

**IC1= peso fresco/peso total**

**IC2= peso vianda/peso fresco**

**IC3= peso seco(100° C 24 h)/peso vianda**

- Intercomparación aguas abiertas/aguas protegidas  
Se han realizado comparaciones entre protegidas y zonas abiertas.

## 2.4. RESULTADOS

### 1. Delimitación de zonas aptas

Usando la herramienta “identificación de zonas potencialmente aptas para la instalación de jaulas para el cultivo de peces en las Islas Baleares” se decidió que la mejor opción para la isla de Menorca se encontraba en el sur de la isla, más protegida de los fuertes vientos de tramuntana, concretamente en las cercanías de la cala Binidalfí.

En Mallorca, existen zonas aptas en el levante y en la bahía de Palma. Las zonas del levante son muy estrechas y en las bionomías realizadas en esta zona se encuentran fondos de máerl. Por lo tanto, solo en la bahía de Palma se encuentran zonas con mayor potencial. De las dos elegidas a priori, se descartó la zona del cabo Blanco debido a que en las cercanías existe una reserva marina, aunque los fondos son preferentemente arenosos y por lo tanto adecuados. En la zona finalmente elegida, la zona de cala Viñas, existe como inconveniente, una mayor presión humana y náutica; los fondos son fangosos, con presencia de erizos y holoturias, también adecuados para la instalación de las estructuras de engorde.

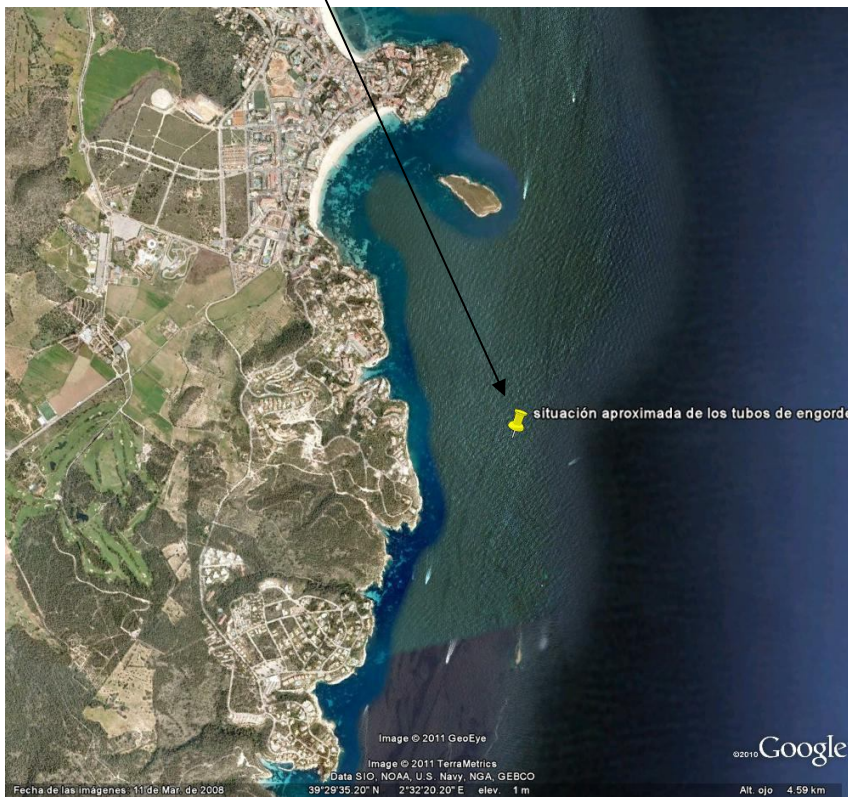
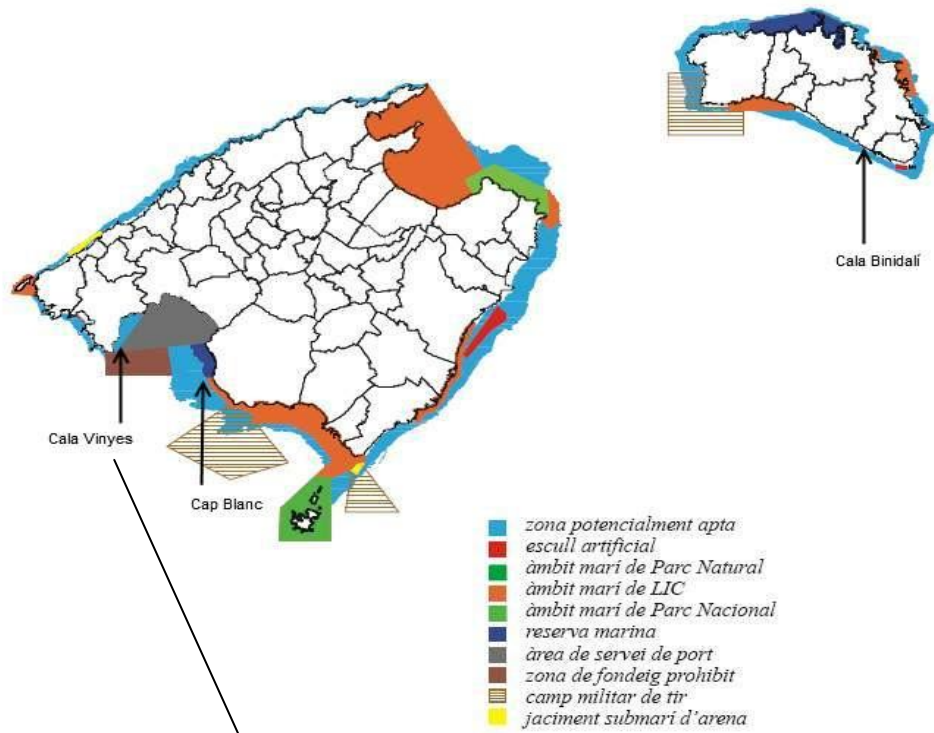


Fig. 1. Ubicación de las zonas barajadas para la ubicación de los tubos de cultivo

## 2. Solicitud de ocupación del Dominio Público Marítimo Terrestre

En fecha 13 de septiembre de 2010 se obtiene la autorización de ocupación del dominio público marítimo terrestre con una prescripción. Esta se refiere a la posible existencia de restos arqueológicos.

Para cumplir con esta prescripción se ha encargado una prospección arqueológica.

### 3. Instalación de las estructuras de cultivo

Se encuentra pendiente de la autorización del departamento de Patrimonio del Consell Insular de Mallorca. Se espera obtenerla en breve, una vez realizada la prospección arqueológica.

Inmediatamente que se obtenga el permiso, se instalarán los tubos de engorde y se realizarán los ensayos de engorde y resistencia de la estructura.

### 4. Engorde del mejillón

#### a. Adquisición o recolección de semilla de mejillón

No se ha producido captación de mejillón en los colectores instalados.

Para las pruebas de 2008 se obtuvo semilla de mejillón fijado sobre boyas de fondeo de barcos en julio de 2006. La mejilla se dispuso en tubulares para el engorde y se desdoblaron según fue necesario.

En 2009, mediante el grupo de investigación de Andalucía del proyecto de Cultivos Integrados se obtuvo semilla de Málaga, aproximadamente 40 kg, que se dispusieron en tubulares para el engorde, dentro de estructuras de protección. Una parte de estos se dispusieron en las jaulas de cultivo del LIMIA y una pequeña parte (3 tubulares de 0,5 m de longitud), se instalaron a 3 m de profundidad en cala Viñas.

Para las experiencias de 2010 se han adquirido 500 kg de mejillón encordado a los productores de Menorca, para instalarlos en las redes de cultivo. A la espera de poder instalarlos en la zona de cala Viñas, se mantienen sobre las redes de engorde a las que se han fijado mediante bridas de nilón, en el interior de una jaula de engorde de peces de 12,5 m de diámetro protegidas con una red de cultivo.

#### c. Seguimiento del cultivo

2008

Durante 2008 se solicitaron muestras de mejillón del engorde realizado en Mahón y al ser de talla similar se realizó una comparación de los resultados del engorde. Se comprobó que el crecimiento era similar en talla y peso.

No se calcularon índices de condición debido a la escasez de mejillón en las cuerdas de engorde de Andratx.

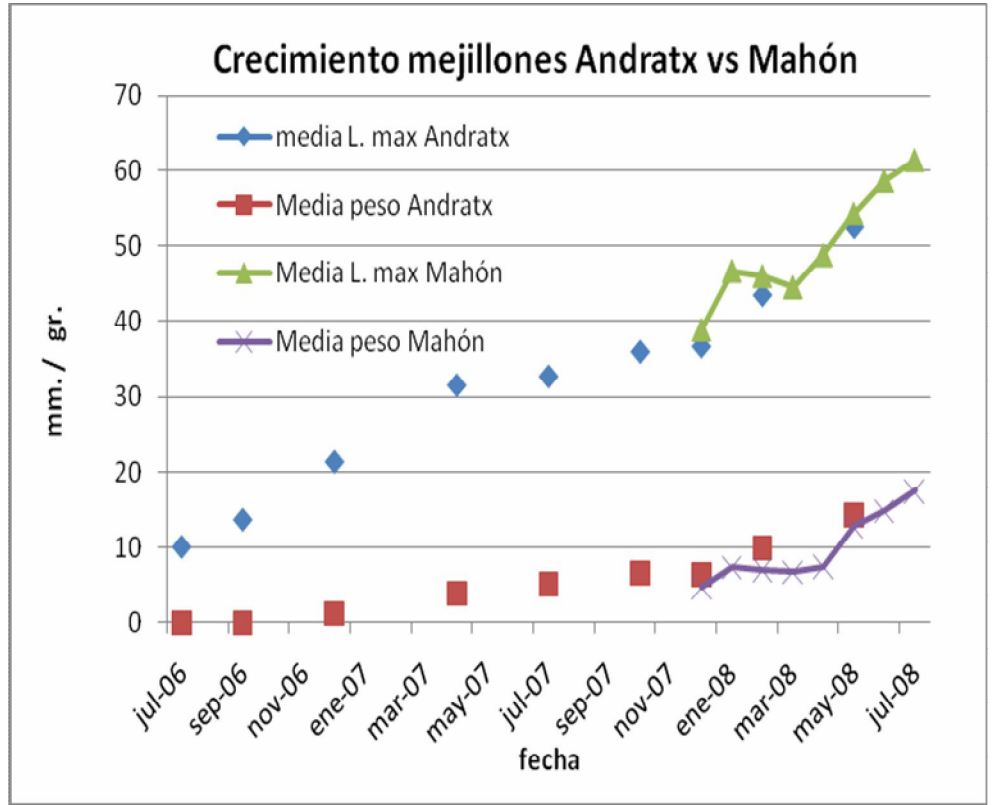


Fig 2: cuerda de engorde de Gráfico 1: Resultados del engorde de 2008

### 2009

Durante el año 2009 se realizó una comparación en el engorde entre una zona protegida, las jaulas del LIMIA y la zona de instalación de los tubos de engorde, en la zona de cala Viñas.

La experiencia finalizó el mes de agosto en el puerto de Andratx, debido a que se produjo una elevada mortalidad. Esta se debió posiblemente a las elevadas temperaturas del agua en el interior del puerto, mientras que en cala Viñas se finalizó en septiembre. En cala viñas no se detectó la mortalidad que se produjo en el puerto de Andratx, pero se finalizó la experiencia al acabarse el mejillón.

En cuanto al crecimiento, es parecido en cuanto a la longitud máxima. En cuanto al peso, este es mayor en el puerto de Andratx.

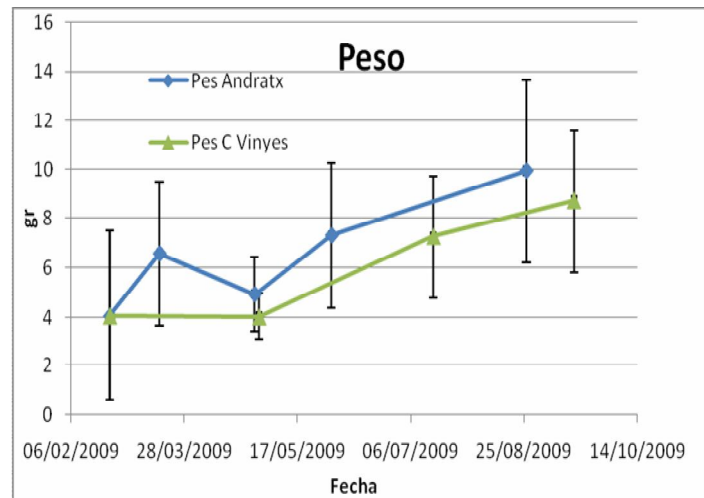
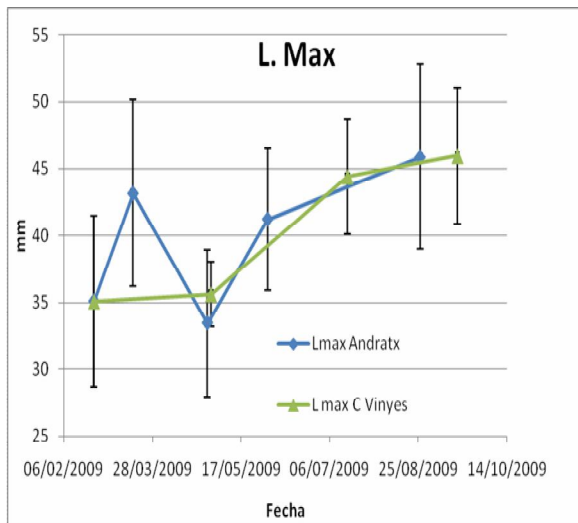


Gráfico 2: Resultados del engorde de 2009

2010

En octubre de 2010 se recibe el mejillón procedente de Menorca. Este se instala sobre las redes de engorde y se cuelga en las jaulas del LIMIA, a la espera de poder ponerlas en los tubos de engorde en cala Viñas.

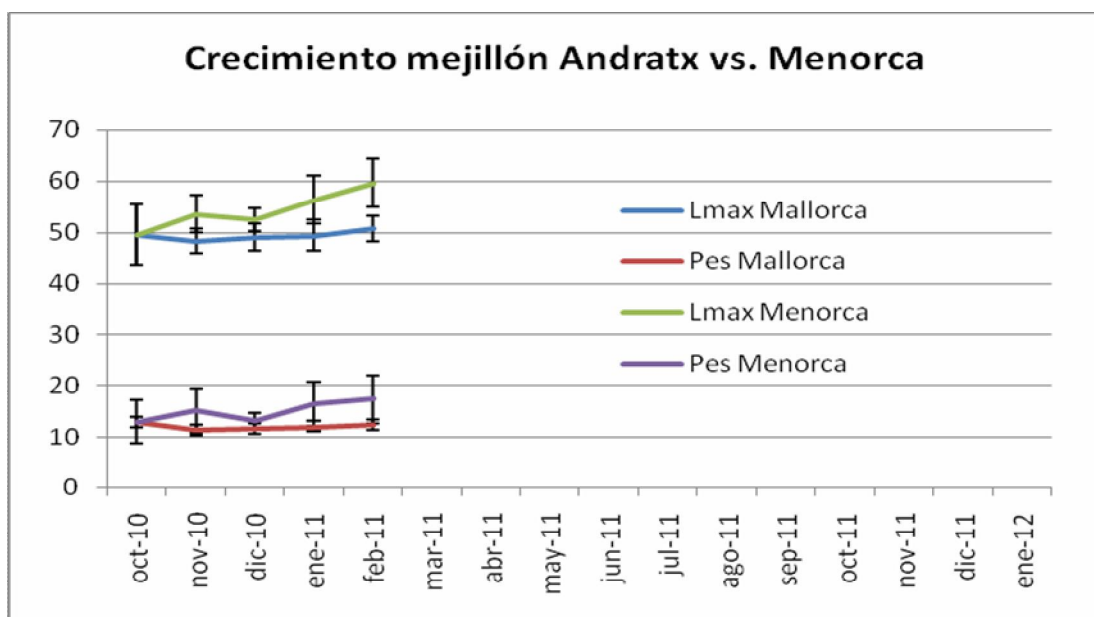


Gráfico 3: Resultados del engorde de 2010

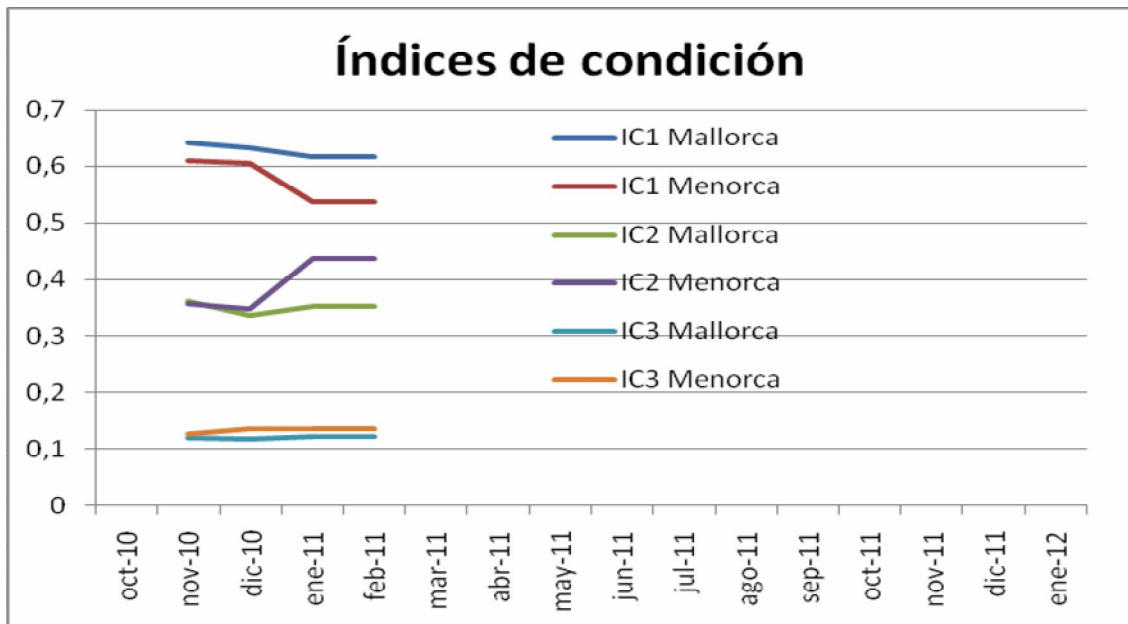


Gráfico 4: Índices de condición del engorde de 2010

En estos momentos, a falta de finalizar la experiencia, parece que el crecimiento es mejor en Mahón.

d. Efectos de especies predatoras sobre el cultivo. Uso de dispositivos antipredación

Se han probado 2 sistemas.

En el caso de los tubulares, se ha hecho una jaula de malla plástica cuadrada de 20 mm de luz, colocando en el interior el tubular (ver fig.3). Han dado un buen resultado, pero son incómodas de usar.



Fig 3: Tubular de engorde protegido por jaula de red plástica.

Para los tubos de engorde se ha diseñado una jaula de red que penderá de dos tubos auxiliares (ver fig. 5). Ha dado



muy buen resultado en aguas protegidas, permitiendo recuperar los mejillones desprendidos.



Fig 4 y 5: Diseño del tubo de engorde con soportes para red de protección. Pruebas de la red de protección en jaulas del puerto de Andratx.

#### e. Comercialización del producto.

El engorde da unos buenos resultados, aunque el contenido en carne claramente menor que en el mejillón gallego o incluso el producido en Mahón.

Sin embargo, en Baleares, nuestra idiosincrasia permite suponer que, tal como sucede con el mejillón de Mahón, se pueda venderá un buen precio en primera venta, aproximadamente, 3€/kg.

## .2.5. CONCLUSIONES

- La obtención de una concesión/autorización para la ocupación del dominio público marítimo terrestre en las Islas Baleares es una asignatura pendiente para poder desarrollar cualquier proyecto de acuicultura, especialmente por la lentitud en la tramitación.
- Existen pocas zonas potencialmente aptas para la instalación de sistemas de engorde, debido a la existencia de grandes áreas donde es incompatible su instalación, tanto por factores de conservación como por otras causas (campos de tiro militar, zona de servicio de puertos, etc.).
- El crecimiento del mejillón en longitud máxima es similar en zonas protegidas (puerto de Andratx, puerto de Mahón) y en zonas abiertas, sin embargo, el peso es menor en zonas abiertas.
- Las estructuras de protección han funcionado bien. Las redes de protección diseñadas para los tubos retienen los desprendimientos y reducen el aporte de restos del cultivo (conchas, mejillones vivos, otros restos) al bentos.
- El precio de primera venta puede ser muy competitivo, cercano a los 3 €/kg (lonja de Mahón, de la notas de venta de 2010).

- El proyecto seguirá en marcha, por nuestra parte el tiempo suficiente para disponer de resultados sobre la resistencia de la estructura de cultivo y del cultivo.

## 2.6. VALORACIÓN

## 2.7. DIFUSIÓN

## 2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

Dos incidencias se pueden destacar en el desarrollo del proyecto en las Islas Baleares:

La primera, debida a problemas organizativos y competenciales dentro de la comunidad autónoma, que por una parte no permitió generar la partida presupuestaria en el año 2007. Durante este año, se inició la redacción del proyecto para la instalación de los tubos de engorde en Binidali (Menorca). Posteriormente se decidió el cambio de ubicación por los problemas logísticos comentados anteriormente.

La segunda derivada de trámites administrativos, especialmente por la lentitud de la Demarcación de Costa en tramitar las solicitudes, que no han permitido la instalación de los tubos de engorde.

Aún así, la dirección General de Pesca, a través del LIMIA pretende finalizar el proyecto durante 2011 y 2012, con cargo a nuestros presupuestos, especialmente por el interés que tenía el sector mejillonero en este sistema.

## 2.9. BIBLIOGRAFÍA

### **3.- ANEXOS CON LOS INFORMES DE LAS DISTINTAS CCAA (estos informes podrán tener el formato que determine cada CCAA, incluidos sus logotipos oficiales)**

---

**JACUMAR**

---

**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS  
MARINOS**

---

**PLANES NACIONALES**

Informe Final del Grupo de Trabajo de la C.A. de  
Canarias correspondiente al Subproyecto: “*Viabilidad  
del cultivo del Perna perna en Canarias*”

AUTORES: Lahoussine Aarab, M<sup>a</sup> del Pino Viera Toledo,  
Gercende Courtois de Viçose e Hipólito Fernández-Palacios  
Barber

## C. A. DE CANARIAS

### ANTECEDENTES

El mejillón *Perna perna* (Fig.1), es uno de los moluscos de mayor interés marisquero en las Islas Canarias. No obstante, es en la isla oriental de Fuerteventura donde se encuentran las poblaciones más significativas, y donde tradicionalmente su captura ha alcanzado volúmenes más importantes, siendo muy habitual su consumo.



*Figura 1. Mejillón Perna perna*

A partir de los estudios desarrollados por Bacallado y colaboradores (1985), el Gobierno de Canarias regula por primera vez la captura de esta especie en todo el Archipiélago, mediante el *Decreto 134/1986, de 12 de septiembre, por el que se regula el marisqueo del mejillón canario (BOC núm. 117, lunes 29 de septiembre de 1986)*.

Sin embargo, la constatación de la preocupante situación de conservación de la población de “mejillón mayorero”, fuertemente diezmada por la extracción furtiva, peligrando su permanencia y futuro desarrollo, motivó la necesidad de establecer un amplio período de veda para su extracción, con objeto de intentar favorecer su recuperación y posterior aprovechamiento racional (*Orden de 16 de julio de 2004, (BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004)*).

Es en este contexto de preocupación por el futuro de la población de este importante recurso marisquero, donde durante los años 2006-2007 surgen diversas iniciativas que, además de intentar conseguir la recuperación de la especie, pretenden

también proporcionar medios de subsistencia adicionales a las Cofradías de Pescadores de la isla, por medio de una posible explotación de cultivo del mejillón majorero, en caso de que las experiencias viniesen a ser satisfactorias.

Además del presente proyecto son dos, por tanto, los proyectos que desde distintas aproximaciones, trabajan en la actualidad en el cultivo del mejillón en Canarias: (Figura 2):

- **“Estudio de la Viabilidad Técnica de la Captación de Semilla y Cultivo del Mejillón *Perna perna* en Fuerteventura”**, desarrollado por la empresa Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. (GMR) auspiciada por el Gobierno de Canarias, a través de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación; Viceconsejería de Pesca; y la Unión Europea. La coordinación científica la desarrolla el Instituto Español de Oceanografía y presenta, además, la colaboración de las Cofradías de Pescadores de Corralejo y Gran Tarajal, (Fuerteventura).

- **“Determinación de la viabilidad del cultivo de mejillón (*Perna perna*) en la isla de Fuerteventura”**, promovido por el Cabildo de Fuerteventura en colaboración con la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, coordinado por el Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA: Instituto Canario de Ciencias Marinas-Universidad de Las Palmas de Gran Canaria)

<b>Viabilidad del Cultivo de <i>Perna perna</i> en Canarias (JACUMAR)</b>	<b>Estudio de la Viabilidad Técnica de la Captación de Semilla y Cultivo del Mejillón <i>Perna perna</i> en Fuerteventura</b>	<b>Determinación de la viabilidad del cultivo de mejillón (<i>Perna perna</i>) en la isla de Fuerteventura</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM)</li> <li>▪ Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA:ICCM-IUSA)</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cabildo de Fuerteventura</li> <li>▪ Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC)</li> <li>▪ Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA:ICCM-IUSA)</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Unión Europea</li> <li>▪ Viceconsejería de Pesca. Gobierno de Canarias</li> <li>▪ Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U.</li> <li>▪ Instituto Español de Oceanografía (IEO)</li> <li>▪ Cofradías de Pescadores de Gran Tarajal y Corralejo, Fuerteventura</li> </ul> 

*Figura 2. Proyectos sobre el cultivo de mejillón y entidades participantes*

## ACTUACIONES PREVIAS AL INICIO DE LAS EXPERIENCIAS

### Reunión con agentes implicados

Dada la coexistencia de los proyectos arriba mencionados, previo al inicio del proyecto (Enero de 2008), se llevaron a cabo reuniones con diversas entidades como son la Viceconsejería de Pesca del Gobierno de Canarias, Consejerías de Pesca y Medio Ambiente del Cabildo de Fuerteventura, Instituto Español de Oceanografía y Gestión del Medio Rural de Canarias, con el fin de exponer por parte de las entidades responsables, tantos los aspectos técnicos relacionados con el desarrollo de cada uno de los proyectos, como de resaltar la idoneidad de colaboración entre los mismos, con el fin de procurar una sinergia tal, que hiciese posible un mayor rendimiento de los recursos y un mejor aprovechamiento de los resultados.

### Solicitud de permisos

Dada la situación legal del recurso, con veda para su extracción desde el año 2004, para poder llevar a cabo las actividades previstas en el Plan, se solicitó al Servicio de Inspección Pesquera, de la Viceconsejería de Pesca del Gobierno de Canarias, permiso para la captura mensual de los ejemplares.

El permiso obtenido se le hizo llegar al SEPRONA y a la Consejería de Medio Ambiente del Cabildo de Fuerteventura. Cabe destacar que dicha Consejería, puso a disposición del Proyecto los medios, tanto de personal (vigilantes) como material (vehículo todoterreno) en caso de que fuese necesario.

### Revisión bibliográfica

Se ha realizado una extensa revisión bibliográfica de los trabajos científicos tanto de campo como de cultivo del mejillón.

La información obtenida es gestionada y almacenada a través de una base de datos referencial creada específicamente para el proyecto.

## **Línea 1: Caracterizar el ciclo reproductivo de la población de *Perna perna Perna perna* (Linné, 1758) en las Islas Canarias**

### **TAREA 1: Evaluación y selección de emplazamientos para la captura de ejemplares**

El objetivo general del presente proyecto es describir el ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* en las costas canarias, determinando el período de puesta en la naturaleza, de cara al control de la reproducción y cría en cautividad de ejemplares de este molusco (Líneas 2 y 3 a desarrollar durante la segunda y tercera anualidad del Plan). Para ello, se establece la captura mensual durante dos años de 20 ejemplares para su estudio histológico.

Con el fin de seleccionar la zona de muestreo, teniendo en cuenta la revisión bibliográfica (Luque *et al.*, 2006, Núñez *et al.*, 1995; Carrillo *et al.*, 1992), y la experiencia de los Vigilantes de Medio Ambiente del Cabildo de Fuerteventura, se seleccionaron para su evaluación una serie de emplazamientos, todos ellos situados en la costa de barlovento de Fuerteventura.

En la franja norte, se seleccionaron siete estaciones entre las zonas de El Cotillo y Los Molinos (Fig. 3). Dichas estaciones, de acuerdo con su posición geográfica de norte a sur, fueron: El Rincón de los Morteros, norte Playa del Águila o de la Escalera, Punta de Taca (sur Playa del Águila o Escalera), norte Playa de Esquinzo, La Laja, Bajas Amarillas y Los Molinos.

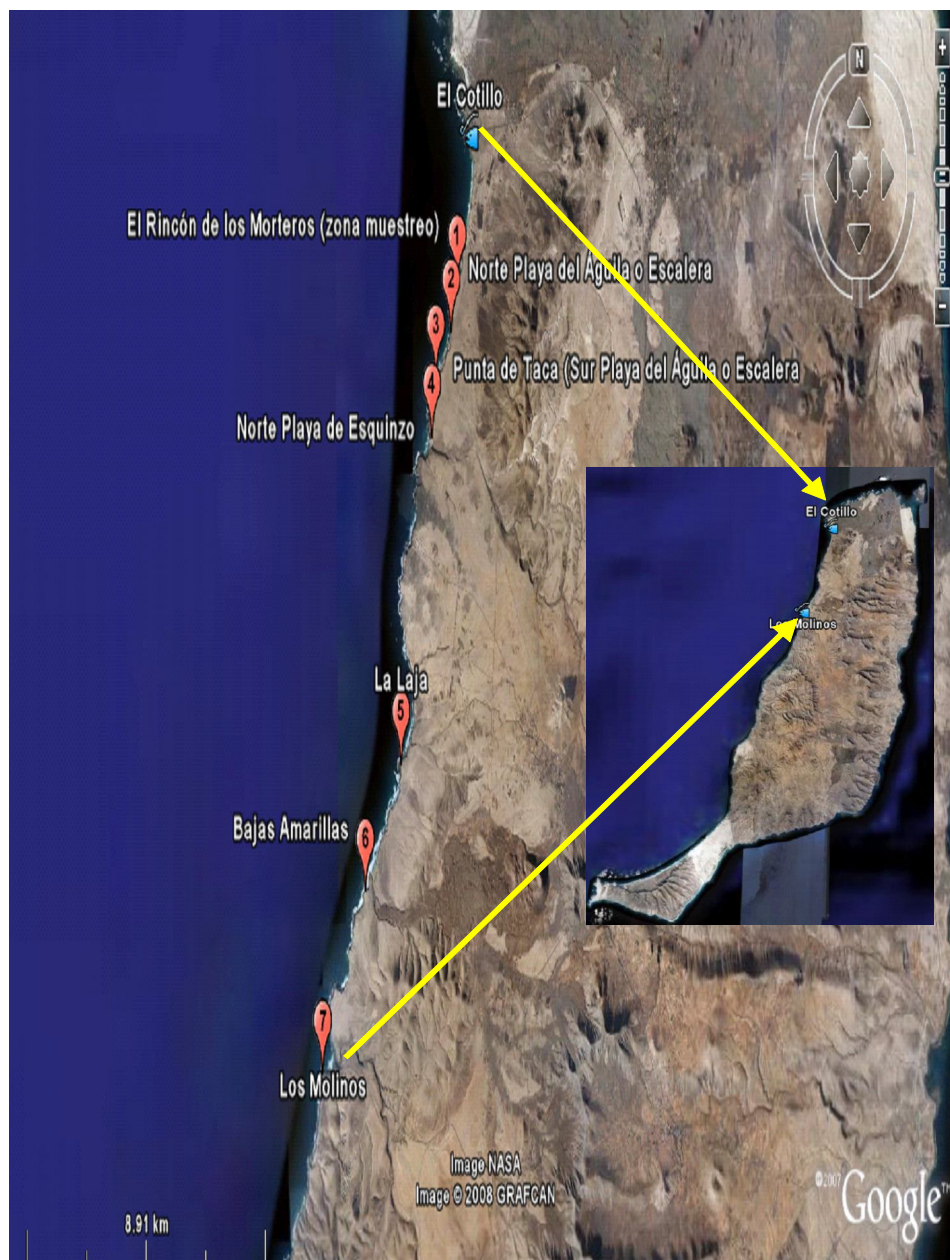


Figura 3. Estaciones visitadas en la franja norte de la costa de barlovento

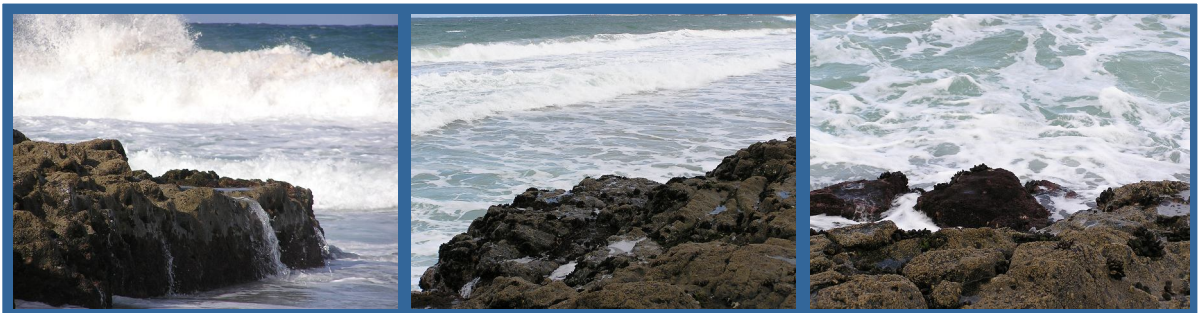


En cuanto a la franja costera del oeste y suroeste, se visitaron seis estaciones comprendidas entre la Playa del Valle y la Punta de Pecebre (Fig. 4). Las estaciones visitadas, de acuerdo con su posición geográfica de norte a sur, fueron: Zona sur de la Playa del Valle, Punta de Jurado Garcey, Playa de Vigocho, la Playa de Ugán, Aguas Liques y Punta Pecebre.



*Figura 4. Situación de los puntos visitados en la franja costera situada entre la Playa del Valle y la Punta de Pecebre*

De todas las estaciones estudiadas, atendiendo a factores tales como la presencia de mejillón, cercanía y accesibilidad durante todo el año, se eligió como zona óptima de captura de ejemplares la zona conocida como **El Rincón de los Morteros**, en el Cotillo, norte de Fuerteventura (UTM: X:0596154 / Y: 3170609; Fig. 5)



*Figura 5. Zona de captura mensual de ejemplares en Los Morteros, el Cotillo.  
Detalle de las piñas de mejillón*

## TAREA 2: Captura y traslado de ejemplares

Para el desarrollo de esta línea, se cogieron muestras mensuales de ejemplares en la Isla de Fuerteventura durante dos años, esto es desde enero 2008 a diciembre de 2009. Para la selección del día de muestreo, se trató siempre de hacerlo con la menor bajamar posible, ya que la maniobra entraña bastante riesgo (descenso por acantilado y peligro por golpe de olas, Fig. 6).

Atendiendo a la colaboración entre diversas entidades mencionada anteriormente, en muchas ocasiones nos acompaña un vigilante de Medio Ambiente del Cabildo de Fuerteventura.



*Figura 6. Maniobra de descenso a la rasa marina para la captura de la muestra. Al lugar se accede con todoterreno*

El mismo día de la recogida, los ejemplares se trasladan en nevera por avión desde Fuerteventura hasta las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas (Fig.7) donde tiene lugar la toma de parámetros histológicos, disección y fijación de los animales para el posterior estudio histológico.



*Figura 7. Ejemplares de Perna perna y nave de cultivo del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM)*

## TAREA 3: Análisis histológico gonadal a lo largo de dos ciclos anuales

### INTRODUCCIÓN

Carrillo y col. (1992) realizaron un estudio con el fin de determinar distintos aspectos sobre la reproducción de *Perna perna* en las costas canarias de Fuerteventura. Estimaron el ciclo reproductivo y la talla de primera madurez sexual, mediante el índice gonadal basado en el peso seco del tejido gonadal respecto al peso seco total de los tejidos blandos. Concluyeron que el ciclo reproductivo es anual y se produce durante todo el año, si bien son patentes los aumentos registrados en primavera y otoño. Estimaron que la primera talla de madurez sexual es de 4,5 cm.

La presente tarea tiene como objetivo estudiar el ciclo reproductivo basándonos en otros índices gonadosomáticos empleados comúnmente en el mejillón, como son el diámetro de oocitos, los estados de madurez sexual de individuos de acuerdo con la clasificación propuesta por Lubet (1959) y el porcentaje de células de reservas (Villalba, 1995; Da Ros y col., 1985; Rojas, 2003; Bouhaimi, 2002; Benomar, 2005). Así mismo, estos índices se relacionarán con la temperatura superficial del agua, y la concentración de clorofila, siendo éstos, los factores más influyentes en la reproducción (Lubet, 1959; Carvajal, 1969; Gabbott, 1975; Griffiths, 1977; Landin, 1981; Lubet y col., 1987; Id Halla y col., 1997).

Además del estudio del ciclo reproductivo, la determinación del ciclo almacenamiento de nutrientes es una de las bases para conocer la biología de la reproducción de bivalvos, basándose en el análisis de la ecología y de la fisiología de la especie. El ciclo reproductivo se inicia con la activación de la gónada, pasando por la gametogénesis, madurez, desove y recesión de la gónada; se puede dividir en dos periodos, el reproductivo, que incluye desde el inicio de la gametogénesis hasta el desove, y el vegetativo que incluye la fase de reposo de la gónada, caracterizada por reabsorción de gametos residuales y la acumulación de sustancias de reserva. De manera simultánea al ciclo reproductivo tiene lugar un ciclo nutricional que consiste en la obtención del medio ambiente, almacenamiento y utilización de sustancias nutritivas que los bivalvos utilizan como sustratos energéticos para poder producir y almacenar gametos viables en suficiente cantidad para asegurar el éxito de la reproducción.

En los bivalvos, la acumulación de las reservas depende potentemente de las etapas de la reproducción. El glucógeno juega un gran papel en el suministro de energía y el metabolismo de la gametogénesis (Gabbott, 1975; Bayne et col. 1982; Mathieu y Lubet, 1993). En estudios in vitro de las células de reserva indican que el metabolismo del glucógeno está relacionada con la concentración de glucosa circulante. Cualquiera que sea el mes del año, mientras que su movilización se rige por factores neuroendocrinos y esto de manera sincrónica con respecto a la actividad reproductiva (Robbins et col., 1990).

En *M. edulis*, el tejido de acumulación contiene dos tipos de células, adipogranulares gránulos ricos en proteínas o lípidos y glucógeno vesicular, también llamadas "células de glucógeno" (Lubet, 1959; Houtteville, 1974; Pipe, 1987, Lenoir,

1989). Según Bayne et col. (1982), el volumen de adipogranulares disminuya cuando el número de gametos formados aumenta.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Con el fin de caracterizar el ciclo reproductivo y del tejido de reservas de *Perna perna* en la naturaleza, se realizó un estudio histológico a partir de 20 ejemplares capturados mensualmente en el intermareal de la playa de Los Morteros, Fuerteventura (desde enero de 2008 hasta diciembre de 2009).

Los individuos se trasladaron al Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), en Gran Canaria, donde se tomaron las siguientes medidas biométricas: longitud total, anchura y altura de la concha hasta 0,5 mm, peso total, peso del cuerpo y peso de las valvas hasta 0,01 g (Fig. 8).

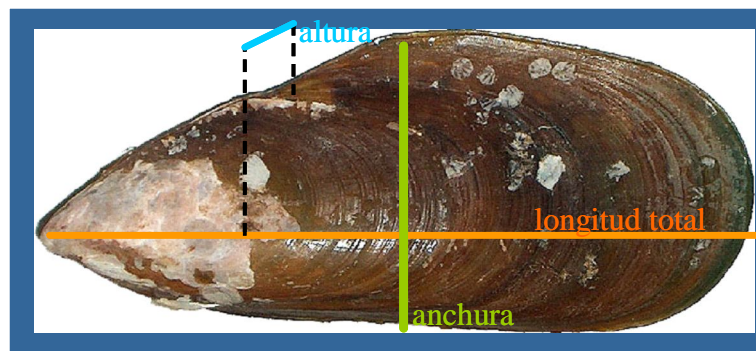


Figura 8. Parámetros biométricos de la concha de *Perna perna*

Se procedió a la disección de los mantos (contienen los gametos sexuales) para el estudio histológico de las muestras. El protocolo realizado, consistió en la fijación del manto en formalina al 10% durante al menos 24 horas.

Una vez fijadas, las muestras se trasladaron al laboratorio de histología del Instituto Universitario de Sanidad y Seguridad Agroalimentaria (IUSSA) de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC) donde se procedió a la deshidratación del manto en serie creciente de alcoholes, clarificado en xilol, infiltración en parafina y preparación de bloques, obtención de cortes de 5 micras, desparafinado y tinción de los cortes con hematoxilina de Harris y eosina (H&E) (para el estudio de ciclo reproductivo) y con reactivo de Schiff (para el estudio de células de reservas energéticas). Finalmente, se procedió a la deshidratación y montaje de portas (Fig. 9).

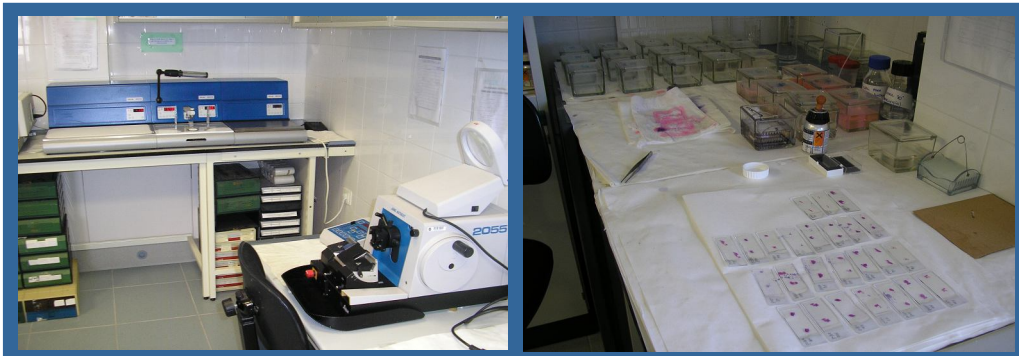


Figura 9. Laboratorio de histología del Instituto Universitario de Sanidad y Seguridad Animal (IUSA)

El sexo de cada individuo se asignó por la coloración del manto (naranja en hembras y beige en machos) certificándose microscópicamente por la presencia de oocitos y espermatoцитos (Fig. 10). Los estados de madurez (EM) de cada gónada se asignaron de acuerdo con la clasificación propuesta por Lubet (1959) e Id Halla (1997) (Tabla I y Fig. 16). Con el fin de determinar el ciclo reproductivo, se calcularon los siguientes índices gonadosomáticos mensualmente:

1. Porcentaje de frecuencias de los estados de madurez (**EM**)
2. El índice gonadal (**IG**) se determinó histológicamente como ha sido propuesto por Wilson et Seed (1974) para *M. galloprovincialis*. Es a partir de las puntuaciones establecidas para cada estado de madurez: estado 0 (1), estados I y II (2), estado III (3), estados IIIB y IIIC (2), estado IIID (1). Para cada muestra, el número de individuos correspondientes a un estado de madurez se multiplica por el valor numérico correspondiente. Los productos obtenidos se suman y el resultado se divide por el número total de individuos analizados.

El índice oscila entre 1 (cuando todos los individuos están en reposo sexual) a 3 (cuando todos los individuos están maduros).

3. Diámetro de oocitos (**OD**): Se midieron el diámetro de 100 oocitos con la ayuda del programa informático Image Pro-plus. Las medidas se tomaron solamente en aquellos oocitos que contenían el nucléolo. Se tuvieron en cuenta el diámetro máximo y mínimo de la célula.

Para determinar la talla de primera madurez sexual (**TMS**): Puntualmente en plena época de reproducción (entre Septiembre y Diciembre de 2009), se cogió 20 individuos de cada clase de talla (mm): [20-23], [23-26], [26-29], [29-32], [32-35], [35-38] y [38-41] y se determinó histológicamente los estadios de madurez de cada rango. La longitud en que el 50% de los individuos están maduros corresponde a la talla de primera madurez sexual.

Para estudiar la evolución de las células de reservas en la región gonadal durante el ciclo sexual, hemos elegido, mensualmente, los portas de 10 animales (5 hembras y 5

machos) en estadios de la fase reproductiva (II, IIIA, IIIB, IIIC), y seguimos, a continuación, el protocolo de PAS (Periodic Acid – Schiff):

1. Desparafinar e hidratar
2. Oxidar con Ácido peryódico 0,5% en agua destilada (5 minutos)
3. Lavar con agua destilada varias veces.
4. Tratar con el Reactivo de Schiff (10 minutos)
5. Lavar con agua corriente (10 minutos). Agua destilada
6. Teñir con Hematoxilina de Harris (6 minutos)
7. Lavar con agua corriente (10 minutos). Agua destilada
10. Deshidratar y montar

Con el fin de determinar los volúmenes de diferentes tejidos del manto de *P. perna*, hemos elegido 5 campos de cada gónada (porta) y mediante el software Image ProPlus hemos calculado las áreas de cada tejido (gónadas, tejido de reservas y otros tejidos).

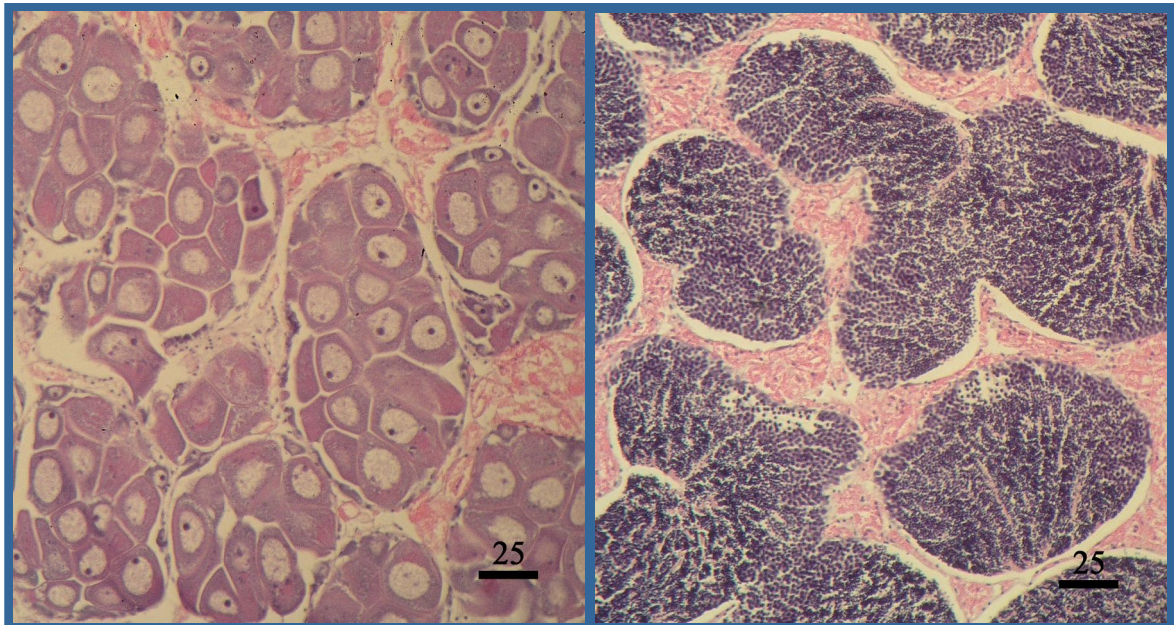


Figura 10. Oocitos en gónada femenina y espermatoцитos en gónada masculina

Tabla I

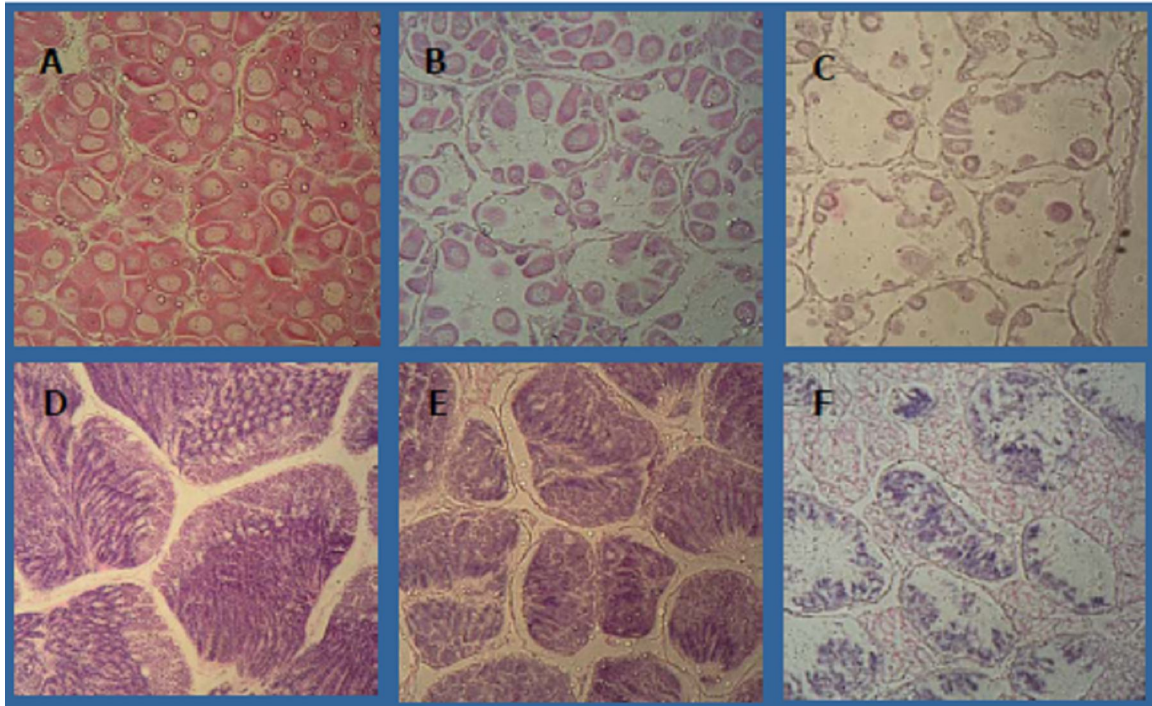
Estados de madurez según Lubet (1959) e Id Halla y col. (1997)

<i>Estados de maduración</i>	<i>Características</i>
<i>Estado 0</i>	Corresponde a la fase de <b>reposo sexual</b> . Los folículos gonadales se encuentran muy comprimidos, apenas sin lumen, debido al gran desarrollo del tejido conjuntivo. En las paredes foliculares únicamente se observan oogonias y espermatogonias. El manto es homogéneo con una coloración anaranjada.
<i>Estado I</i>	<b>Inmaduro.</b> En este estado los folículos gonadales aumentan de tamaño. La actividad mitótica es importante, las oogonias aumentan de tamaño y se dividen.
<i>Estado II</i>	<p><b>Madurando.</b></p> <p><u>Ovogénesis:</u> Este estado se caracteriza por la aparición y desarrollo de los ovocitos en el interior de los folículos gonadales. No obstante, siempre queda en la periferia de los folículos una reserva de células precursoras (oogonias). Inicialmente los ovocitos están ampliamente enraizados en la pared del folículo. A lo largo de la ovogénesis los ovocitos aumentan progresivamente de tamaño como consecuencia de la acumulación de productos de reserva (vitelogénesis) alargándose perpendicularmente a la pared folicular y proyectándose hacia la luz del folículo; el núcleo se desplaza hacia el centro y el ovocito queda unido a la pared folicular por un pedúnculo.</p> <p><u>Espermatogénesis:</u> Las espermatogonias forman una o dos capas periféricas en los folículos gonadales. Su división da lugar a sucesivos tipos celulares de la línea germinal (espermatoцитos I, espermatoцитos II, espermátidas y espermatozoides) que se disponen en estratos concéntricos dentro de los folículos.</p> <p>A medida que la ovogénesis y espermatogénesis progresan, el diámetro de los folículos gonadales aumenta, ocupando un porcentaje del manto cada vez mayor. Paralelamente, el tejido de reserva se reduce.</p>



Continuación Tabla I

<i>Estados de maduración</i>	<i>Características</i>
<i>Estado III</i>	<b>Estado IIIA: Maduro.</b> Se caracteriza por la presencia casi exclusiva de gametos maduros en los folículos. En las hembras, la mayor parte de los ovocitos se han desarrollado completamente y toman formas poligonales. Existen además algunos ovocitos en desarrollo. En el caso de los machos existe una reducida capa periférica de células precursoras (espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas). Los espermatozoides se organizan en columnas radiales, con los flagelos orientados hacia el eje central del folículo. En este estado de madurez gonadal, los folículos ocupan prácticamente la totalidad del manto y el tejido de reserva queda muy reducido o desaparece.
	<b>Estado III B: Parcialmente desovado.</b> Las gónadas aparecen parcialmente vacías como consecuencia de la emisión de gametos. En el caso de las hembras, algunos ovocitos de pequeño tamaño no son emitidos. Las oogonias aparecen en la periferia de los folículos. En el caso de los machos, se observan espermatogonias y espermatoцитos junto con algunos espermatozoides no emitidos.
	<b>Estado III C: Restauración gonadal.</b> Este estado se caracteriza por la coexistencia de gametos maduros (no emitidos en la puesta) que ocupan el área central de los folículos y oogonias o espermatogonias.
	<b>Estado III D: Regresión gonadal.</b> El lumen de los folículos está ocupado por gametos residuales y hemocitos que fagocitan estos gametos residuales no emitidos en la puesta. En la pared folicular quedan oogonias así como pequeñas masas necróticas resultantes de la degradación de gametos residuales. El diámetro de los folículos gonadales se reduce progresivamente hasta casi llegar a su desaparición. Paralelamente, el tejido de reserva se desarrolla ocupando casi la totalidad del manto. Entre las células del tejido de reserva hay abundantes hemocitos.



**Figura 11.** Estadios de maduración en *Perna perna* para hembras y machos (aumento de 400). **A** estado IIIA hembra, es el estado previo al desove. **B** estado IIIB hembra, parcialmente desovado. **C** estado IIIC hembra, es el estado post desove con oocitos residuales. **D** estado IIIA macho, es el estado previo al desove. **E** estado IIIB macho, parcialmente desovado. **F** estado IIIC macho, contiene espermatozoides residuales

## RESULTADOS

### Sexualidad y ciclo reproductivo

Del total de animales muestreados, 199 fueron hembras y 242 machos. La determinación del sexo macroscópicamente fue evidente en la mayoría de los casos, exceptuando a los individuos pequeños o en individuos en estado *regresión gonadal III-D*.

Durante todo el periodo de estudio, se encontraron gónadas en estado *madurando* (estado II) y *maduro* (estados III). Noviembre de 2008 mostró la máxima cantidad de individuos en estado *maduro* (estado IIIA) (57,89 %) (Fig. 12). El estado de maduración *parcialmente desovado* (estado IIIB) fue máximo en los meses de diciembre, enero, febrero de 2008 (50, 50 y 55 %, respectivamente) y en enero y marzo de 2009 (52,63 y 59,09% respectivamente). El estado *inmaduro* (estado I) fue máximo en el mes de julio de 2008 (55,56 %) no presentándose individuos en este estado entre los meses de septiembre y marzo.

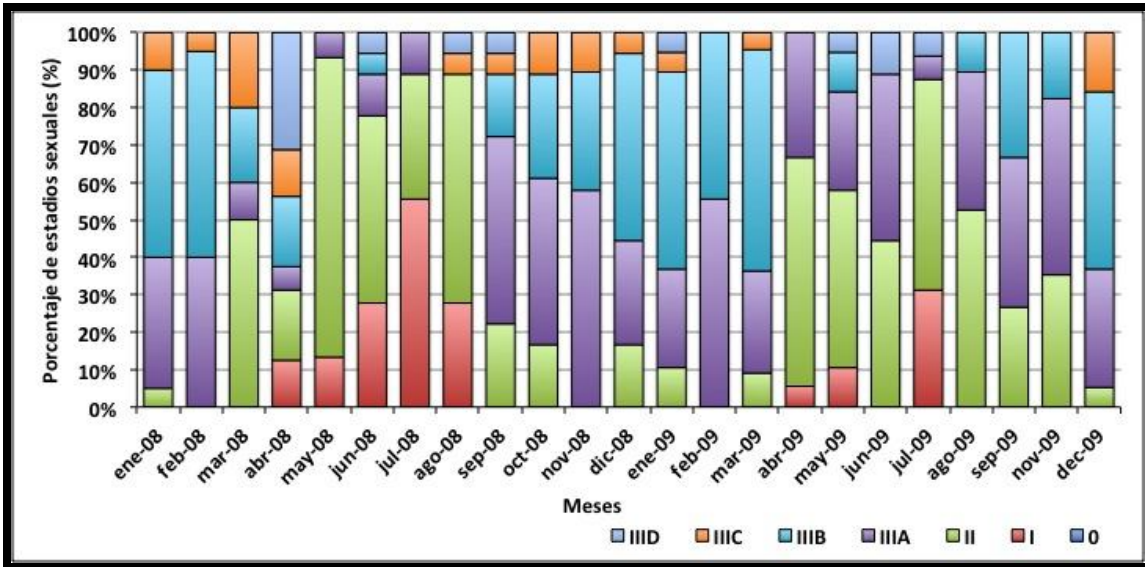


Figura 12. Porcentaje de frecuencias de los estados de madurez sexual para machos y hembras en el periodo de estudio. Los estados de madurez están clasificados según Lubet (1959) e Id Halla y col. (1997)

La evolución del índice gonadal (Fig. 13) se mantuvo estable alrededor de 2 durante el período de estudio. Esto refleja una actividad sexual continuada en el tiempo marcado por una sucesión de períodos de la gametogénesis, la emisión de gametos y la restauración de las gónadas.

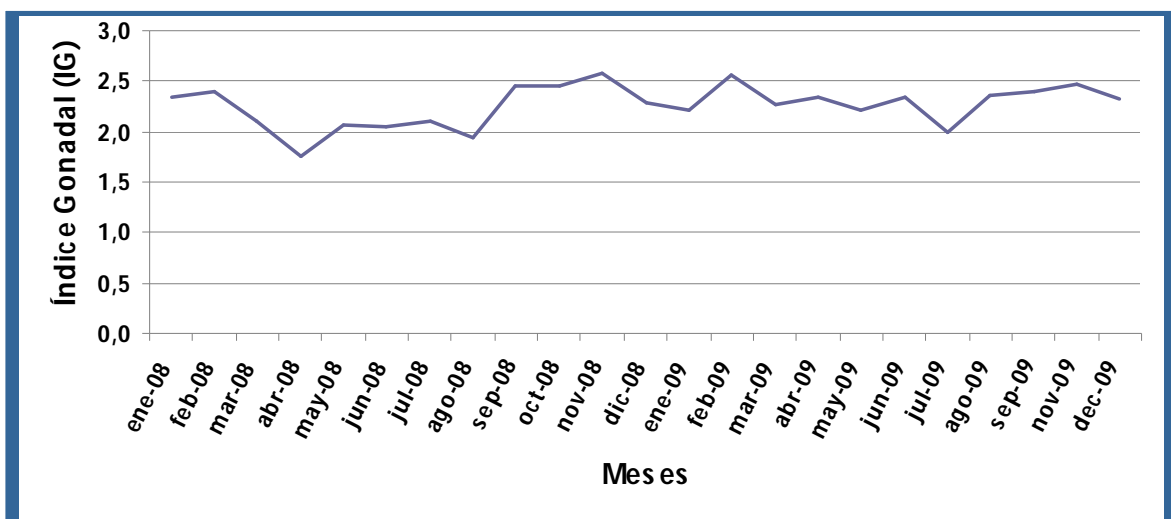


Figura 13. Índice gonadal de *P. perna* durante el periodo de estudio.

El diámetro de oocitos, se muestran en la Fig. 14. Los valores de las medianas no fluctuaron durante el periodo de estudio, exceptuando el mes de agosto de 2008, debido seguramente al número de hembras muestreadas ( $n=3$ ).

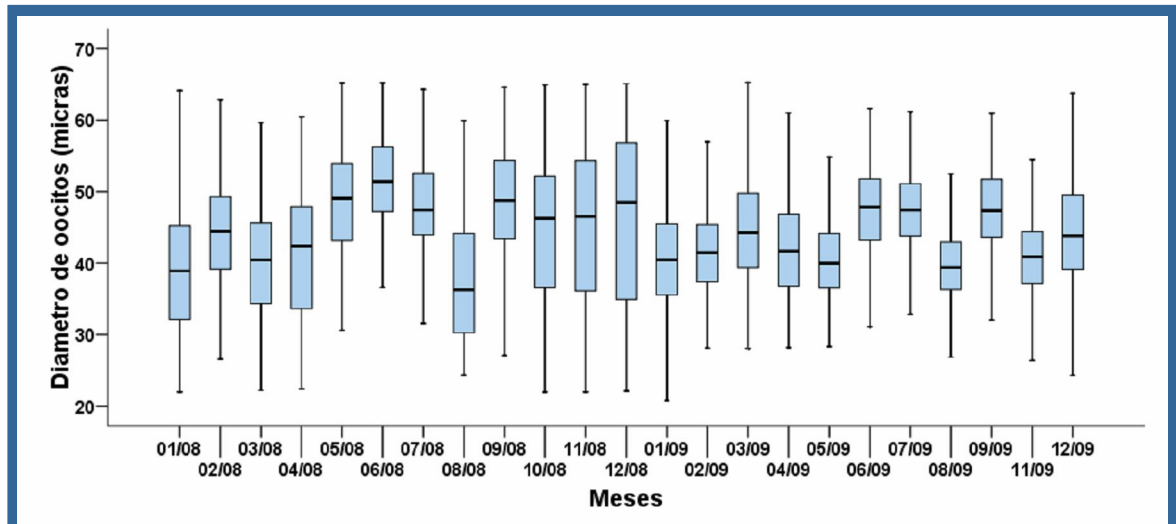


Figura 14. Diagrama de caja del diámetro de oocitos (micras) a lo largo del periodo de estudio.

Los resultados en los índices gonadosomáticos sugieren un ciclo reproductivo anual, sin embargo, se observa una máxima actividad de la población entre los meses de septiembre y marzo.

### Morfología de la gónada

En la Fig. 15 se muestra la frecuencia de las clases de talla de oocitos presentes en gónadas maduras al comienzo y final de la máxima actividad reproductiva de la población. Los resultados obtenidos muestran que el modelo ovárico es asincrónico.

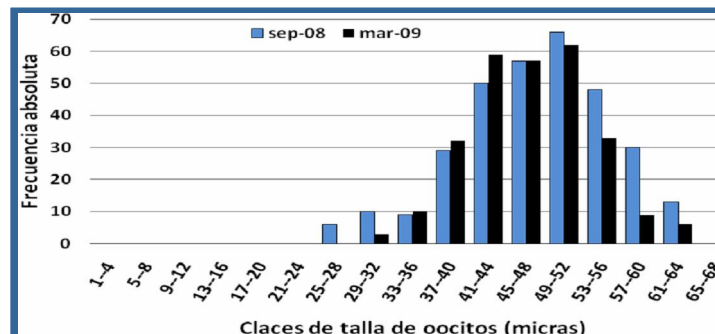


Figura 15. Frecuencia de clases de talla de oocitos al comienzo y final de la máxima actividad reproductiva de la población

### **Talla de primera madurez sexual**

En la Fig. 16 se observa que el 50 % de los individuos están sexualmente maduros a una talla entre 29 y 32 mm.

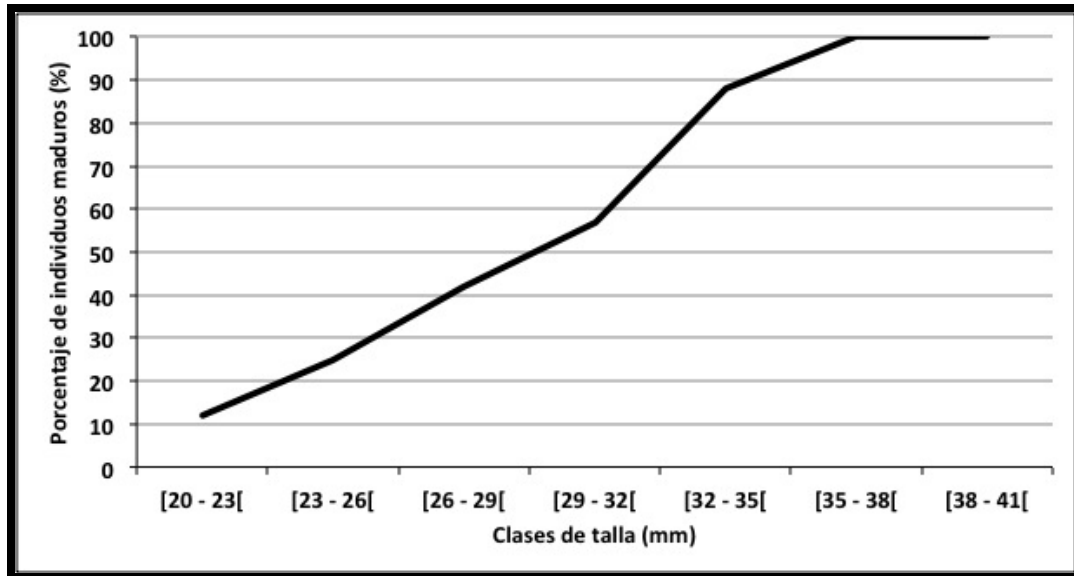
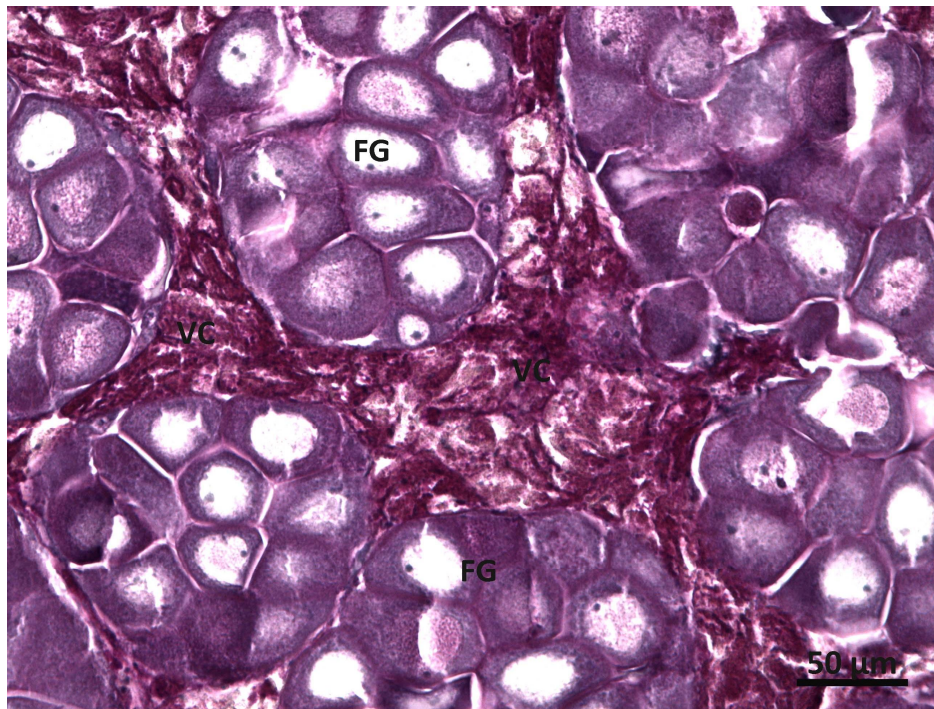


Figura 16. Talla de primera madurez sexual de la población de *P. perna*.

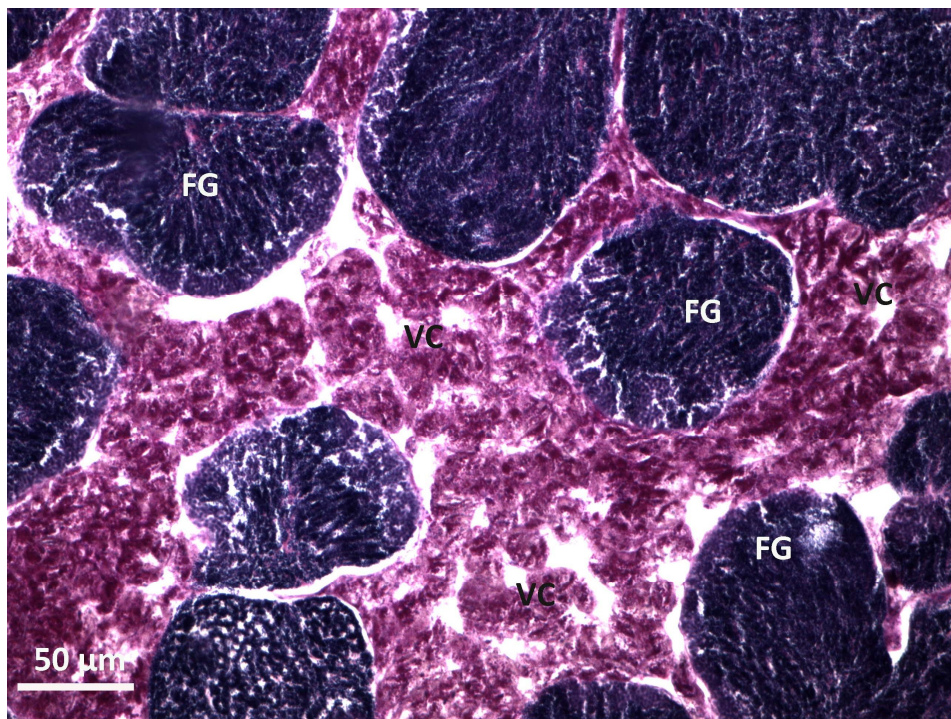
### **Tejido de reservas energéticas**

En *P. Perna*, las células de reservas tienen una forma poligonal, con núcleos excéntricos y gránulos ocupando la periferia del citoplasma. En función de su riqueza en polisacáridos, su color se vuelve cada vez más rosa o violeta cuando se tiñen con el reactivo de Schiff. El tejido de reservas contiene las células vesiculares (VC), pequeñas, de forma ovoide y dispersas en el tejido. La mayoría de ellas están situadas contra la pared externa de los folículos gonadales (Figura 17a y 17b).

Las células de reservas se encuentran en la región del manto - gónada, como coronas alrededor de las lagunas hemolinfáticas. También se encuentran alrededor de los folículos de la gónada.



*Figura 17a: Aspecto general y localización del tejido de reserva en hembra de Perna perna. FG: Folículo Gonadal, VC: Células Vesiculares*



*Figura 17b: Aspecto general y localización del tejido de reserva en macho de Perna perna. FG: Folículo Gonadal, VC: Células Vesiculares*

Con respecto a la evolución de los tejidos (gonadal y de reservas), la figura 18 expone que las células vesiculares ocupan el manto durante la primavera y el verano (durante las épocas de menor actividad reproductiva). Se nota una mínima proliferación durante las épocas de otoño y invierno. El ciclo de tejido de reservas presenta una evolución proporcionalmente contradictoria al ciclo del tejido gonadal.

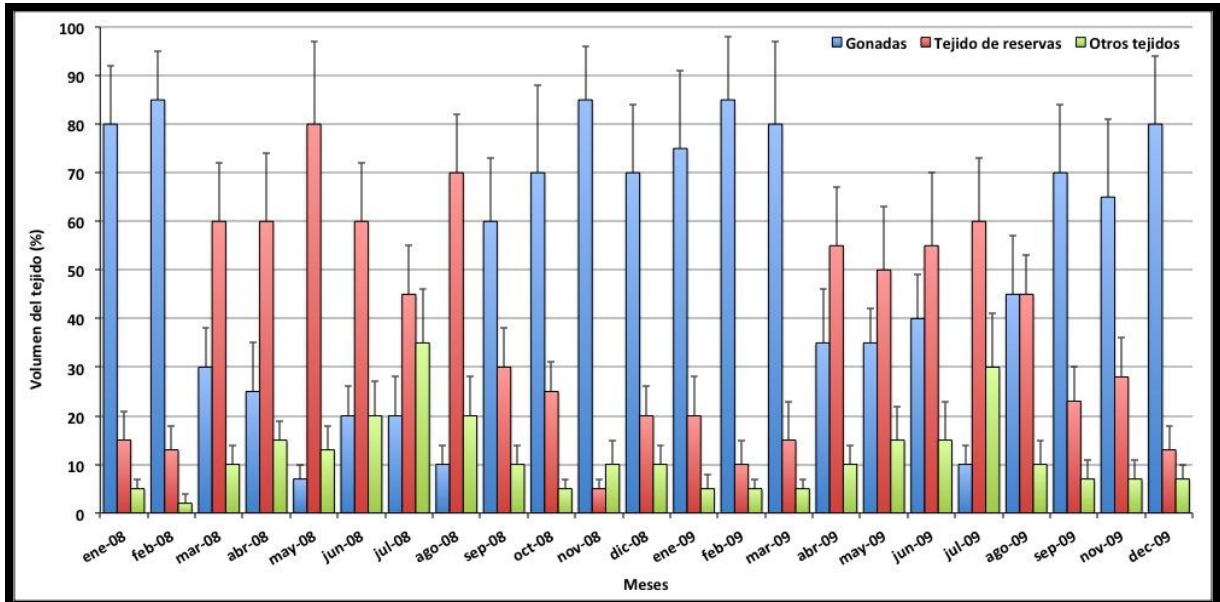


Figura 18: Variaciones estacionales de los volúmenes de tejidos en el manto de *P. perna*

### Estructura de la población

Las hembras variaron entre 33 -111 mm y entre 5-106 g, y los machos entre 31-109 mm y 3-65 g. Las frecuencias de tallas siguieron una distribución normal (Fig. 19) con una media de  $65 \pm 15.1$  mm.

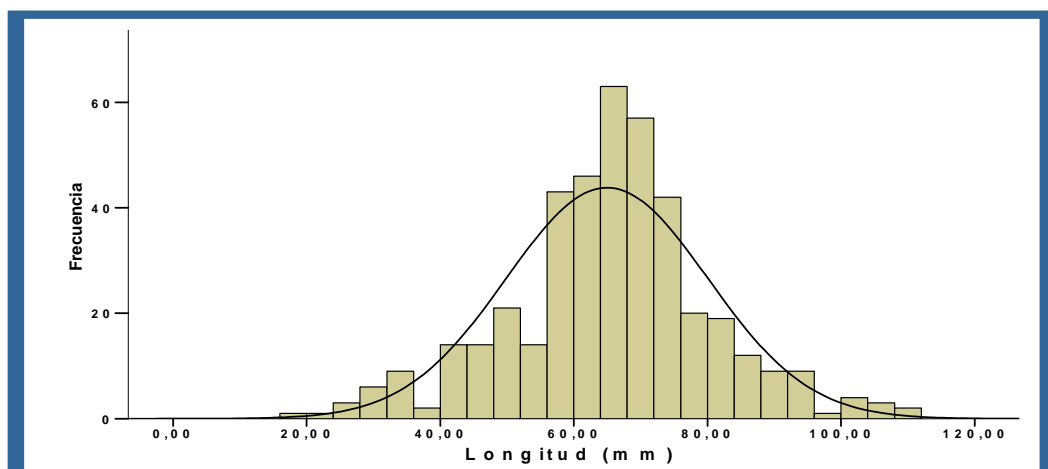
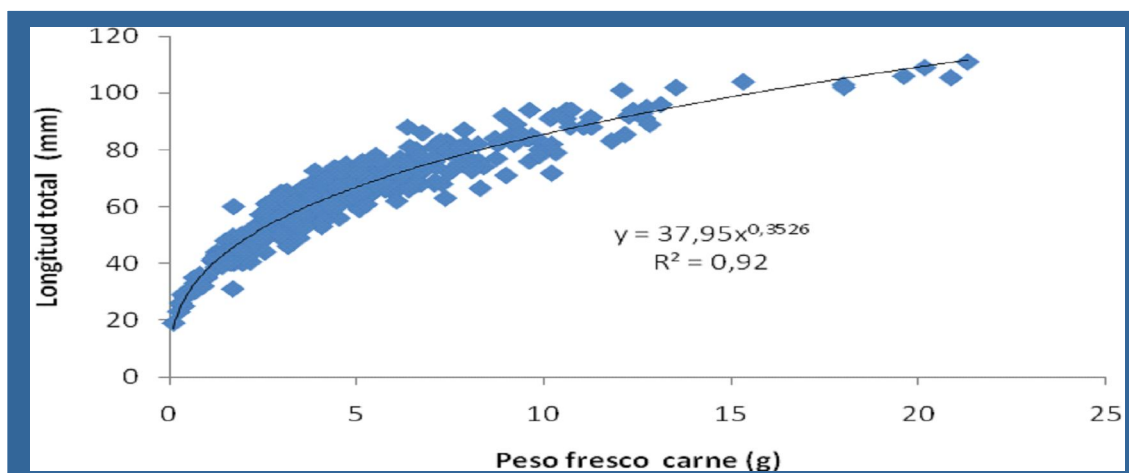
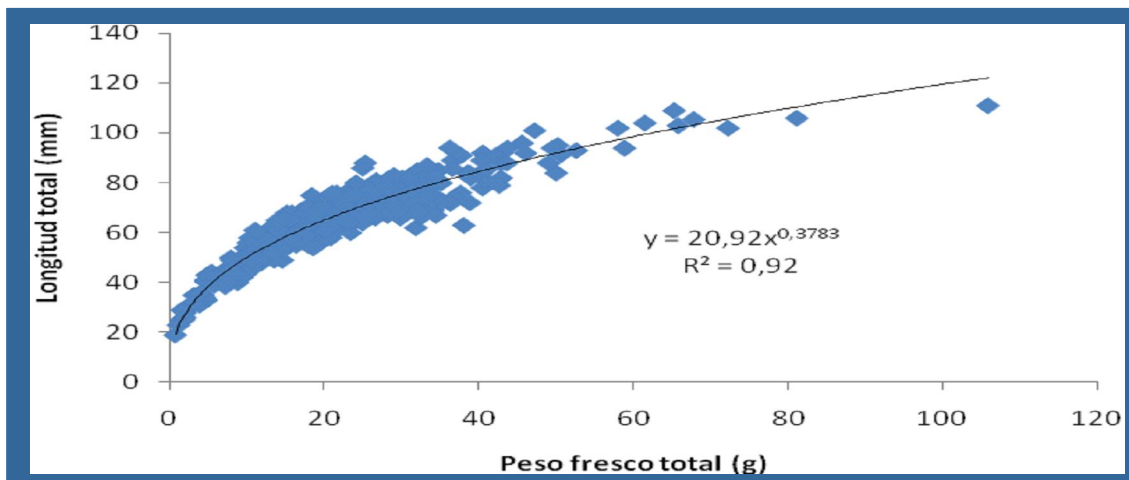


Figura 19. Distribución de frecuencias de talla en la población de *Perna perna* presente en la playa de Los Morteros, Fuerteventura.

Las correlaciones biométricas de la población, considerando la longitud de la concha como variable dependiente del peso total, altura e anchura de la concha, peso del cuerpo y peso de las valvas se muestra en la Fig. 20. Las relaciones entre la talla y el peso total, peso corporal y peso de la concha siguen una relación potencial ( $r^2 = 0.9$ ,  $0.9$  y  $0.9$  respectivamente) mientras que la relación entre la longitud total y ancho y altura de la concha es lineal ( $r^2 = 0,86$ ). El sex-ratio de machos respecto a hembras fue 1:0,82 (con un leve predominio de los machos durante el período de estudio), por lo que se aceptó la relación 1:1.





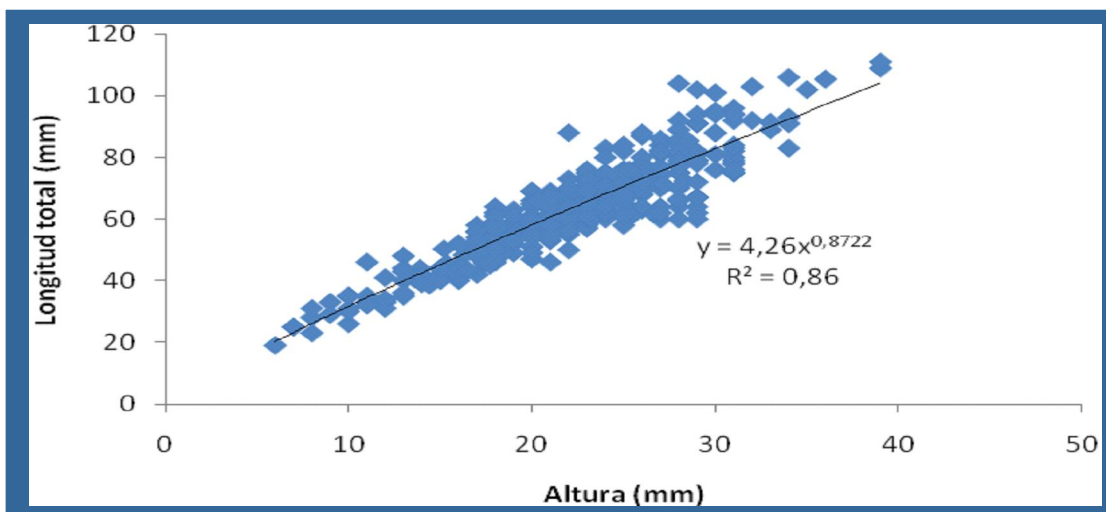
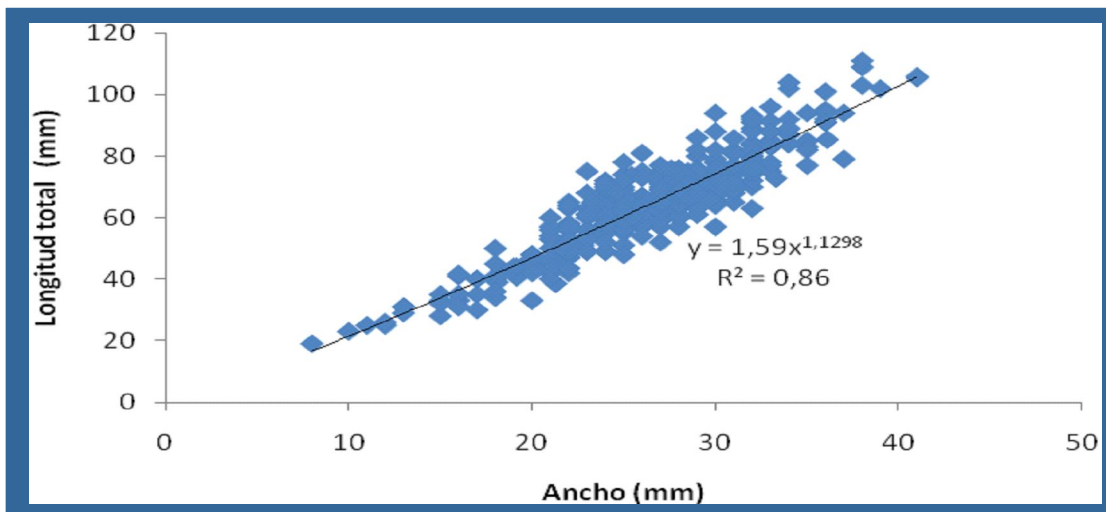
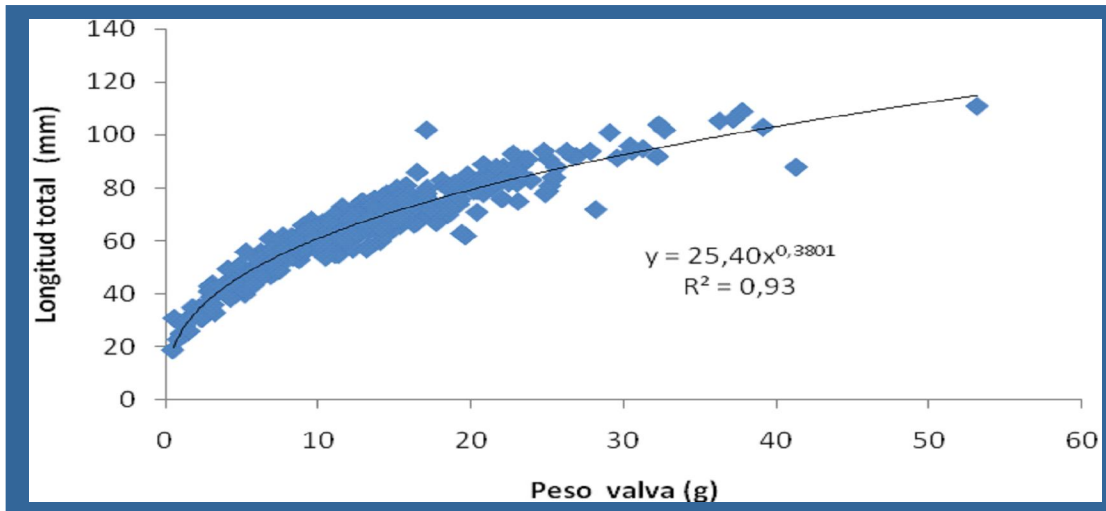
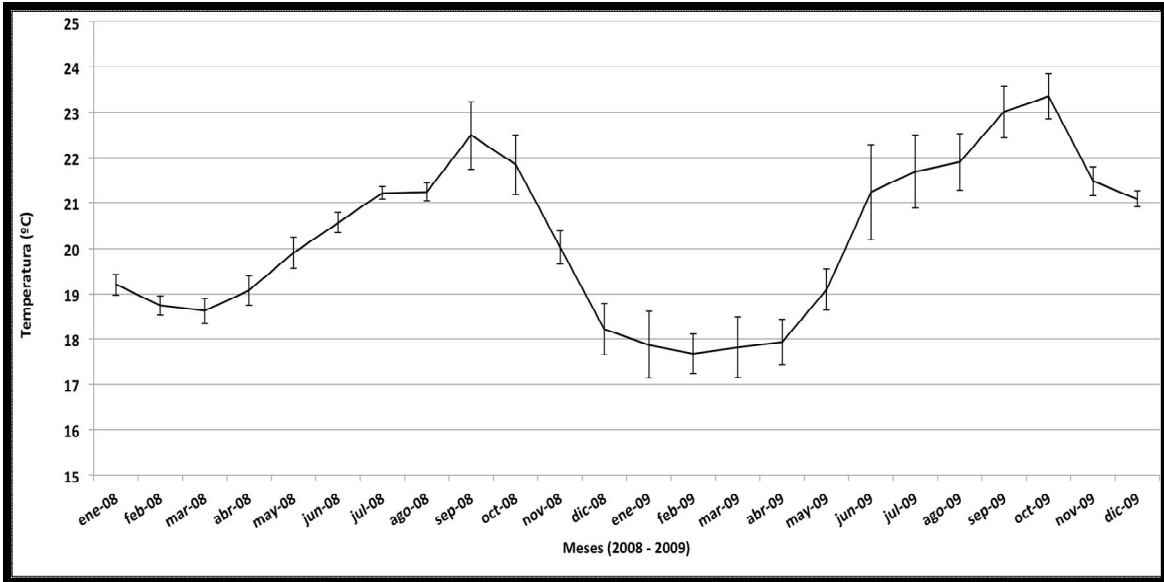


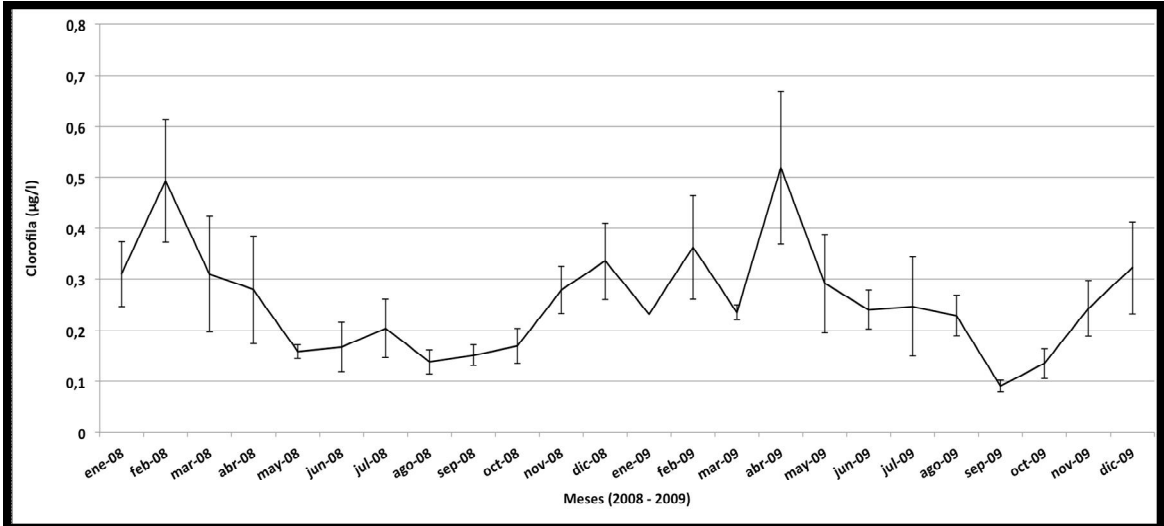
Figura 20. Relaciones biométricas de la población de *Perna perna* presente en Rincón de Los Morteros, Fuerteventura.

## Temperatura y producción primaria

En las Fig. 21 y 22, respectivamente, se muestran los datos de temperatura y concentración de clorofila en el periodo de estudio.



*Figura 21. Temperatura registrada en la playa de los Morteros*



*Figura 22. Concentración de clorofila (µg/l) en la playa de los Morteros*

## DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio indican que la población de *Perna perna* en la playa de Los Morteros, posee una actividad reproductiva a lo largo de todo el año, con una máxima actividad de la población entre los meses de septiembre y marzo. Al comparar estos resultados con datos bibliográficos en otras zonas geográficas, se observa que a medida que la latitud decrece el periodo de puesta en *Perna perna* aumenta a lo largo del año, reflejando claramente su relación con las condiciones medioambientales (Cayre, 1981: 2 puestas en Congo; Lasiak, 1986: 2 puestas en Sudáfrica; Crochet y col., 1999: 3 puestas en EEUU; Bouhaimi, 2002 y Benomar y col., 2006: 2 puestas en Agadir). De esta forma, en el presente estudio, se observaron individuos en estado *madurando* y *parcialmente desovado* desde septiembre hasta marzo, así mismo, la disminución de la actividad gonadal resultó desde abril hasta agosto, caracterizado por la presencia de individuos en estados *restauración gonadal* y *regresión gonadal*. Esta característica ha sido ya reportada en otras especies de mejillón como en *Mytilus galloprovincialis* (Id Halla y col. 1997), *Tivela mactroides* (Prieto 1980b) y *Arca zebra* (Nakal 1980) en latitudes similares a la de Canarias y coincide con lo señalado por Giese (1959) y Villalobos (1980), quienes indican que en los trópicos, los invertebrados marinos se caracterizan por presentar desoves prolongados la mayor parte del año, mientras que en áreas templadas, existe una sincronización en las fases de maduración originada por los marcados cambios en la temperatura observados en las distintas estaciones del año.

El periodo de puesta en *Perna perna* está relacionado con la temperatura y la disponibilidad de alimento (Seed, 1976; Griffiths, 1977; Shafee, 1989; Abada-Boudjema y Dauvin, 1995; Id Halla y col., 1997; Bouhaimi, 2002). En el presente estudio se observó que existe una relación entre el periodo de puesta y la concentración de clorofila, observándose la máxima actividad reproductiva durante el periodo de mayor concentración de clorofila (entre septiembre y marzo) de acuerdo con lo observado por otros autores para la misma especie (Seed, 1976; Griffiths y Griffiths, 1987). Así mismo, se observa que la maduración gonadal de la mayoría de individuos coincidió con el aumento de temperatura, como observó Lubet y col., (1986, 1987) en *Mytilus edulis*, mientras que la mayoría de las puestas se dieron entre septiembre y febrero, coincidiendo con la disminución de la temperatura registrada en el agua de mar (de 26 a 18°C).

El presente estudio mostró que el desarrollo ovárico en *Perna perna* es asincrónico, observándose durante la época de puesta, todos los estados de desarrollo del ovocito al mismo tiempo. Este resultado está de acuerdo con lo encontrado por otros autores para la misma especie (Berry, 1978 y Lasiak, 1986).

La talla de primera madurez sexual en *P. perna* se alcanza desde la longitud de 29 mm. En Marruecos, esta talla está entre 19 y 22 mm (Bouhaimi, 2002). Según Lubet (1959), la edad de primera madurez sexual, en *Mytilus galloprovincialis*, depende de la época de fijación de semillas y de factores del medio ambiente (disponibilidad de alimento, temperatura, salinidad, etc.). En nuestro estudio, la edad está ubicada entre 5 y 8 meses post-fijación, lo que corresponde a una talla de 15 hasta 35 mm. Este ejemplo explica que la talla de primera madurez sexual depende de condiciones abióticas.

Las células del tejido de reservas de *P. perna* son células vesiculares. Nuestro estudio concuerda con lo reportado por Id Halla y colaboradores (1997), en una población

de *P. perna*. Mientras que Bouhaimi (2002) y Benomar (2005) mencionan dos tipos de células de reservas: adipogranulares y vesiculares.

Durante el ciclo anual, el tejido de reservas se desarrolla de una manera inversa al ciclo de gametogénesis, con máxima proliferación en la primavera y el verano (épocas con actividad reproductiva reducida).

En este sentido, muchos autores han descrito que existe una relación inversa entre el tejido de reservas y las células germinales, tanto en *M. galloprovincialis* (Danton et al., 1996; Cáceres-Martínez et Figueras, 1998; Bouhaimi, 2002), en *M. edulis* (Pipe, 1985; Mathieu, 1987; Kimball et McElroy, 1993) y *P. perna* (Lunetta, 1969, Id Halla, 1997; Bouhaimi, 2002; Benomar, 2005). También se nota la misma evolución en otros bivalvos como *Crassostrea gigas* (Heude-Berthelin, 2000) y *Tapes decussatus* (Rodríguez-Moscoso et Arnaiz, 1998).

Este tipo de observación en los bivalvos marinos indica que el almacenamiento de reservas es necesario para que las gónadas preparen el desarrollo de nueva gametogénesis, también el desarrollo del tejido de reservas está relacionada con la acumulación de varios nutrientes ingeridos durante la primavera y el verano, lo que corresponde a la fase de mínima actividad reproductiva, excepto en las zonas donde el fitoplancton es abundante y las temperaturas del verano no perturban de la gametogénesis (Lubet, 1994; Cáceres-Martínez et Figueras, 1998).

En relación con la estructura de la población, el sex ratio fue similar al encontrado en la misma y otras especies de mejillón como *Mytilus galloprovincialis* (Id Halla y col., 1997; Bouhaimi, 2002). Así mismo, la talla media encontrada en el presente estudio ( $65 \pm 15$  mm) fue superior a la encontrada por Nuñez y col., (1994) en Fuerteventura (42 mm).

## Línea 2: Evaluación de parámetros óptimos para el acondicionamiento del stock de reproductores

### TAREA 2.1.: Habilitación del criadero piloto

En el año 2009 y para las necesidades de las tareas del mismo, fue necesario proceder a la reforma de un antiguo cuarto en la Planta experimental de Taliarte situada en el muelle, para transformarlo en cuarto de estabulación de reproductores y en sala de producción larvaria.



*Figura 23. Zona destinada para la habilitación del criadero piloto en la Planta experimental de Taliarte-colaboración con la Viceconsejería de Pesca-ICCM (Diciembre de 2008)*

### Diseño del criadero piloto

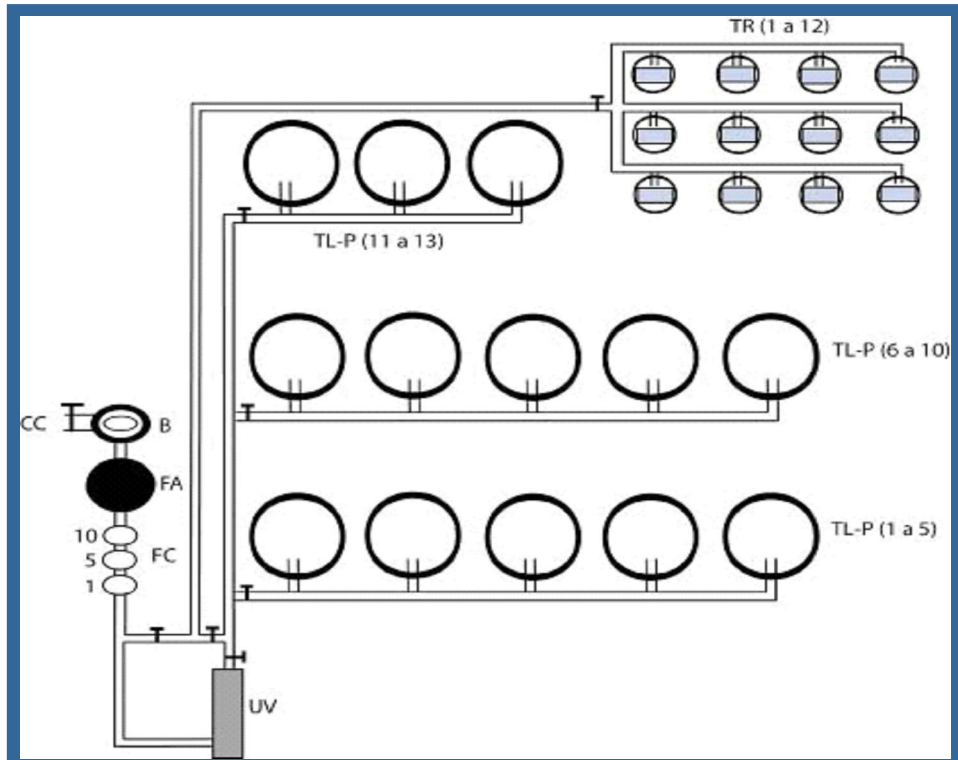
Se habilitó una sala para el acondicionamiento de reproductores y el cultivo larvario de *Perna perna*, con una superficie aproximada de 25 m<sup>2</sup> (Fig.23 y 24).

El agua de mar es captada por un sistema de bombas situadas en la parte exterior del muelle, conducida mediante tubería a la nave. El agua recogida del conducto de captación (tubería PVC 50 mm de diámetro) vía una bomba (8,1 m<sup>3</sup>/h), se filtra en primer lugar a través un filtro de arena y posteriormente a través de filtros de cartuchos de 10, 5 y 1 micras. La esterilización se realiza a través de un aparato de ultravioleta.

El mantenimiento de reproductores consiste en doce tanques circulares, de 450 x 420 mm (50 litros). Los tanques están dispuestos en una estantería de tres alturas para adecuarse al espacio disponible de la sala. El agua entra a través de una tubería de tipo sanitario de PVC de 32 mm de diámetro y esta distribuida en cada tanque, por arriba, a través de una entrada de agua de PVC de 20 mm de diámetro regulada con una llave. El nivel de agua se controla con un tubo de nivel exterior al tanque y el desagüe de todos los tanques se realiza por debajo a través de una canaleta general.

Cada uno de los tanques consta de un aireador de madera porosa conectado a una tubería flexible de polietileno de 6 mm de diámetro, a su vez conectada a una tubería

general de polietileno de 32 mm de diámetro. El sistema de aireación dispone de llaves de plástico que permiten regular el flujo.



■ B - Bomba de agua de mar; CC - Conducto de captación; FA - Filtro de arena; FC - Filtros de Cartuchos de 10, 5 y 1  $\mu\text{m}$ ; TL-P – 13 Tanques del cultivo larvario y post-larvario; TR - 12 Tanques del acondicionamiento de reproductores dispuestos en una estantería de tres alturas; UV – Módulo de desinfección con luz ultravioleta

*Figura 24. Esquema general del criadero piloto*

En cuanto al cultivo larvario, la instalación consta de trece tanques de fibra de vidrio, de 150 litros de volumen (Fig. 25). En el interior del tanque, en el tubo de nivel, se insertan unas mallas 63 micras que permiten mantener las larvas en el tanque mientras el cultivo se realiza en circuito abierto.

El agua entra filtrada a una micra y esterilizada por lámpara UV a través de una tubería de tipo sanitario de PVC de 32 mm de diámetro y está distribuida en cada tanque, por arriba, a través de una entrada de agua de polipropileno de 10mm de diámetro regulada con una llave. El nivel de agua se controla con un tubo de nivel interior al tanque y el desagüe de todos los tanques se realiza por debajo de los mismos.

Cada uno de los tanques consta de un aireador de madera porosa conectado a una tubería flexible de polietileno de 6 mm de diámetro, a su vez conectada a una tubería general de polietileno de 32 mm de diámetro. El sistema de aireación dispone de llaves de plástico que permiten regular el flujo.



*Figura 25. Imágenes del sistema de captación, filtración y esterilización de las instalaciones para el mantenimiento de los reproductores y cultivo larvario*

### **Cultivos auxiliares: producción de fitoplancton**

Las labores de producción de fitoplancton, necesario como alimento para los reproductores, las larvas y postlarvas, se desarrollan en dos sitios; el cepario (cámara de cultivo isotérmica), y la producción a gran escala a temperatura ambiente en una sala habilitada para ello, en el marco del presente proyecto, de 20 m<sup>2</sup> de superficie en la nave del muelle de Taliarte antes mencionada.

#### *Cámara de cultivo isotérmica*

En la cámara de cultivo isotérmica, de aproximadamente 6 m<sup>2</sup> de superficie, se guardan y cultivan las diferentes cepas en placas de Petri y tubos de ensayo de 40ml, en matraces de 100 y 500ml y en balones de 5 litros. (Fig. 26). La temperatura se mantiene constante entre 18 y 21°C. Los cultivos se encuentran bajo iluminación continua proveniente de tubos fluorescentes. El material como el medio de cultivo (F2) a esta escala se esteriliza semanalmente durante 20 minutos a 121°C en un autoclave de 165L.

La aireación tiene lugar a través de un compresor de 14 salidas, cada una conectada a una tubería flexible 6mm de diámetro a su vez conectada al aireador de los balones y

regulado por una llave plástica de 4 mm. Se utiliza un mechero de gas para mantener condiciones de esterilización para inocular.



*Figura 26. Ceparío y cultivo de microalgas en pequeño volumen*

En este momento hay 6 cepas de microalgas en la cámara de cultivo: *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis sp.*, *Monochrysis sp.*, *Phaedactylum tricornutum*, *Chaetoceros calcitrans* y *Skeletonema costatum*. Cada una de las cepas está guardada por triplicado en placas de Petri y tubos de ensayo. Estas microalgas se cultivan en medio F2 de cultivo, a un inóculo de 50 - 200 células/ $\mu$ l (en general 10% de inóculo). Este proceso se desarrolla en varias etapas, aumentando progresivamente el volumen de los cultivos: matraces de 100 a 500 ml y finalmente botellas de 5 litros.

Las cepas han sido cedidas por CCAP, Dunstaffnage Marine Laboratory (Oban, Argyll, UK); el Instituto Tecnológico de Canarias (ITC) y el Instituto Gallego de Formación en Acuicultura (IGafa).

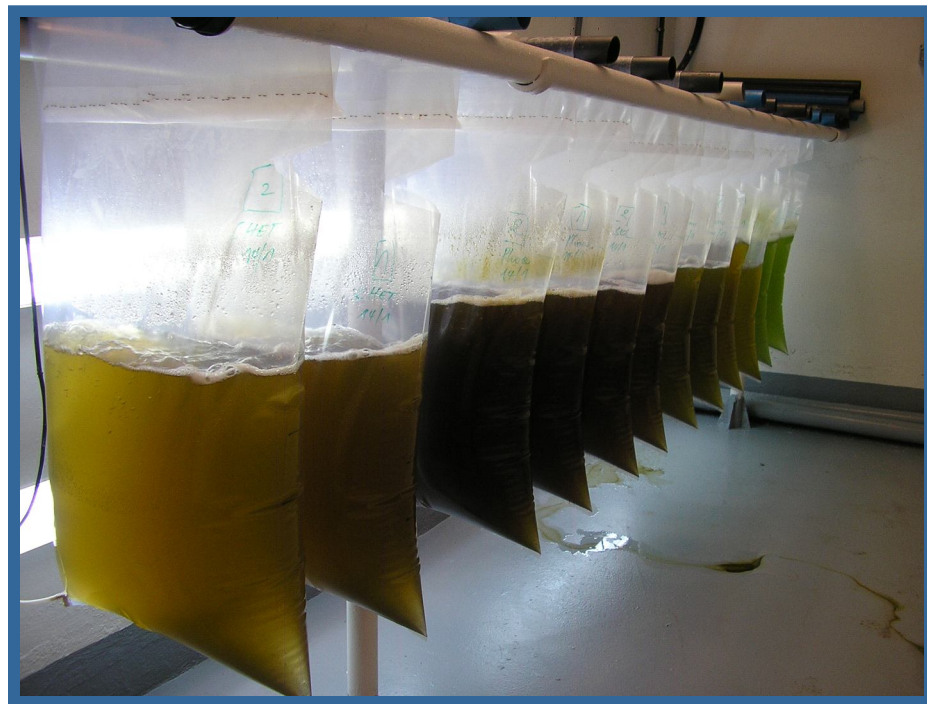
### *Producción a gran escala*

La producción de microalgas a gran escala se realiza en bolsas de 40 l a temperatura controlada (20 a 22 °C) mediante un aparato móvil de aire acondicionado (Ref. WAP-357EM/EMH – 1250W) y bajo iluminación continua proveniente de tubos



fluorescentes (4000 a 6000 lux). El agua utilizada para el cultivo se filtra a  $1\mu\text{m}$  y se esteriliza con luz Ultra Violeta antes de añadir el medio de cultivo (F/2). Los cultivos se realizan en bolsas verticales (Fig. 27) en las cuales la aireación tiene lugar a través de unas tuberías de polietileno de 6mm de diámetro. La cantidad de aire se puede regular a través de una llave plástica de 4mm. Todas la cepas guardadas en el cepario se cultivan a gran escala y se inoculan semanalmente con un inóculo del 10% en bolsas de 40litros que se cosechan una vez alcanzando  $25 \times 10^6$  a  $30 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  y se siembran de nuevo en nuevas bolsas (40 l) a razón de 10% ( $2,5 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ ).

Se realiza un control diario de la temperatura del agua. Se realizan controles semanales de salinidad y pH.



*Figura 27. Bolsas verticales de cultivo de fitoplancton (40 litros)*

Actualmente los reproductores se estabulan de 15 a 20 ejemplares por tanque (colocados en cestas), en condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura controlada, oscilando entre 20 y 22°C. Se realiza un control diario de la temperatura y oxígeno del agua. Se realizan controles semanales de salinidad y pH.

## TAREA 2.2.: Evaluación de los parámetros óptimos para el acondicionamiento de reproductores

En el marco de la presente tarea, se realizaron diversos experimentos con el fin de determinar los parámetros óptimos para el desarrollo gonadal y elaborar el protocolo de acondicionamiento de reproductores de *Perna perna*.

Los reproductores son acondicionados a temperatura controlada gracias al sistema de aire acondicionado que se ha instalado en la sala de cultivo (Fig. 28).

Se estableció la temperatura de  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  para el óptimo acondicionamiento y maduración gonadal de los ejemplares es. A esta temperatura, tenemos animales maduros en cualquier momento.



Figura 27. Sistema de aire acondicionado usado para el control de la temperatura del aire y agua en la sala de cultivo (Ref.: WAP-357EM/EMH, 1250W)

### 2.2.1. Inducción al desove de los reproductores acondicionados en el criadero piloto del ICCM

#### INTRODUCCIÓN

Una vez los reproductores han alcanzado la madurez suficiente pueden ser inducidos a desovar en condiciones controladas. La emisión de gametos puede ser provocada en condiciones experimentales siguiendo diversos procedimientos que, según la revisión efectuada por Le Pennec en 1981, engloban, entre otros, la variación de temperatura, la adición de gametos, los choques térmicos y químicos y físicos, etc. No obstante, es necesario destacar que la efectividad de estas técnicas está íntimamente relacionada con el grado de madurez sexual de los ejemplares utilizados en las

experiencias de estimulación, y todas ellas resultan inoperantes en individuos sexualmente inmaduros.

#### *Shock termal:*

El sistema más comúnmente utilizado para provocar la expulsión de gametos en los bivalvos es la variación de la temperatura del agua en la que estos animales se encuentran, bien procedan de condiciones ambientales o de acondicionamiento controlado. Generalmente se recurre a subir la temperatura entre 5 y 10°C (según las especies), manteniéndose ésta constante hasta la puesta, o bien volviendo después de unos minutos a la temperatura inicial, o incluso a temperaturas inferiores, pudiendo repetirse este proceso varias veces (Pérez-Camacho y Román, 1987).

#### *Adición de gametos:*

La adición de gametos de uno u otro sexo al agua que contiene los individuos a estimular es un procedimiento que utilizado aisladamente sólo da resultados positivos con ejemplares totalmente maduros. Una técnica de este tipo, consistente en triturar el cuerpo de un macho sexualmente maduro en 200 c.c. de agua de mar, que se filtra posteriormente a través de un tamiz de 20 ó 40 µm, añadiéndose la suspensión de esperma a una bandeja de estimulación con 20 l de agua, en la que se mantienen entre 20 y 40 animales, ha sido empleada por Pérez-Camacho y Román (1987) con resultados satisfactorios en *Vieira decussata*, *V. pullastra* y *Ruditapes philippinarum*, aunque las puestas aumentan notablemente cuando la adición de gametos se utiliza en unión de los estímulos térmicos.

#### *Estímulos químicos:*

Inyecciones en la gónada de serotonina han sido empleadas con Pérez-Camacho y Román (1987) con *Vieira decussata*, *Pecten maximus* y *Ruditapes philippinarum*. La respuesta en ejemplares maduros se produce al cabo de unos pocos minutos, aunque el estímulo es muy intenso y con frecuencia provoca la expulsión de gametos inmaduros, e incluso la de fragmentos de gónada.

Otras sustancias químicas que han sido experimentadas por distintos autores con diferentes especies son las siguientes: Iwata (1951a) emplea inyecciones de KCl 0,5 M en la cavidad paleal de *Mytilus edulis*, e inmersiones durante períodos de 5 a 10 minutos en esta misma solución, o en NH<sub>4</sub>OH o BaCl, en *M. edulis* y *Ruditapes philippinarum* (Iwata, 1951b). Kinoshita (1943) utiliza NaOH para subir el pH del agua de 8,2 a 8,4, como medio para provocar la puesta en *Patinopecten yessoensis*, y Loosanoff y Davis (1963) inyectan soluciones de amoníaco en la gónada de *Ruditapes philippinarum* y *M. mercenaria*.

Estos procedimientos, que además de provocar la puesta se emplean para romper la vesícula germinal de los ovocitos, facilitando así la fecundación (Raven, 1966), son mucho menos efectivos que los estímulos térmicos (Le Pennec, 1981).

Morse et col. (1977) obtienen puestas en *Mytilus edulis* y *M. californianus* entre otras especies, mediante la alcalinización del agua con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, activando de esta forma. Según indican, las síntesis de prostaglandina, que actúa directamente sobre la puesta.

#### *Otras técnicas:*

Además de los métodos descritos anteriormente, Uki y Kikuchy (1974) utilizaron la irradiación del agua con luz ultravioleta para provocar la expulsión de gametos en *Chlamys nipponensis* y *Patinopecten yessoensis*, y Le Pennec (1981) en *Chlamys opercularis*.

Breese y Robinson (1981) emplean la inmersión de los reproductores en agua con una alta densidad de alimento para provocar la puesta en distintas especies, entre las que se encuentra *M. edulis*, obteniendo emisiones de gametos a temperaturas de 18 a 20°C, con concentraciones de *Pseudoisochrysis paradoxa* y *Thalassiosira pseudonana* del orden de 2 a 2,5 millones de células/c.c.

Aguirre (1980) emplea en *M. edulis*, además del calentamiento del agua a 18°C y la adición de gametos, la estimulación mecánica del músculo aductor, obligando a los mejillones a permanecer con las valvas abiertas, merced a la introducción entre las mismas de pequeños trozos de varilla de vidrio de 5 mm de diámetro.

Por último, y para esta misma especie, Brenko y Calabrese (1969) recurren a pinchar con una aguja en el músculo aductor, a la vez que añaden espermatozoides, con lo que obtienen puestas en tiempos que oscilan entre los 5 minutos y una hora; e Iwata (1950) aplica al agua en que se mantienen los reproductores corrientes de 30 voltios durante unos segundos, produciéndose la emisión de gametos al cabo de 30 a 40 minutos, aunque este método ha sido repetido por otros autores con diferentes especies sin resultados positivos (Le Pennec, 1981).

## MATERIAL Y MÉTODOS

El agua de agua de mar, se filtra a través de un filtro de arena de 50µm. El agua se destina a las sala de acondicionamiento de reproductores. El agua para las fases de cultivo larvario y postlarvario, requiere de una filtración más fina, para lo cual se utilizan filtros de cartuchos, que se colocan en serie decreciente de 10, 5 y 1 µm.

### Acondicionamiento de reproductores

A lo largo del año 2010, de forma periódica se recolectan ejemplares de 50 a 90 mm de longitud desde el medio natural (Fuerteventura) y se trasladan de forma inmediata a Gran Canaria para su estabulación en el criadero del ICCM.

Se ubican en tanques circulares de 50 litros de capacidad (15 hasta 20 individuos por tanque) (Fig. 28), y con agua de mar circulante, aireación constante y alimentación diaria durante un periodo de 6 a 8 semanas con microalgas: *Tetraselmis sp*, *Isochrysis galbana* y *Chetoceros calcitrans* (con una concentración de 250 000 a 300. 000 celulas/ml). Durante la etapa de aclimatación se controlan las variables que pueden afectar su desarrollo.

Cada uno de estos tanques consta de un doble fondo (cesta) del fondo real para separar las heces de los animales, es además extraíble, lo que facilitó la limpieza del tanque (Fig. 28). La limpieza de los tanques se realiza semanalmente.

### Inducción al desove

Una vez que la instalación estuvo dispuesta, se realizaron los primeros intentos de inducción al desove dos veces en 2009 y varias veces a lo largo del año 2010.

Para la inducción al desove se utilizó la técnica de shock térmico, la cual consiste en someter a los ejemplares previamente seleccionados a cambios bruscos de temperatura, provocando así un estrés, el que ocasiona la emisión de gametos de los reproductores.

La selección de reproductores se realiza considerando el aspecto externo y condición de la gónada (turgente en periodos de desove).

Los reproductores seleccionados, deben estar con sus conchas libres de impurezas, posteriormente son colocados individualmente en botes con agua de mar filtrada a  $1\ \mu\text{m}$ , esterilizada y a temperatura ambiente ( $21^\circ\text{C}$ ) (Fig. 29). Luego de 30 minutos se trasladan a otro recipiente con aguas de iguales características pero a  $16^\circ\text{C}$  de temperatura. Estos cambios bruscos de temperatura se efectúan por un período de tres horas aproximadamente, tiempo en el cual se produce el desove de los ejemplares.

Por lo general, los ovocitos son evacuados en forma aglomerada. Los espermatozoides son emitidos mediante un suave chorro de aspecto lechoso que enturbia rápidamente el agua (Fig. 30).



*Figura 28. Sistema de acondicionamiento de reproductores.*



Figura 29. Ejemplares en cubetas individuales inducidos al desove

Una vez obtenidos los gametos, se produce la fecundación y fertilización de estos, lo cual toma un tiempo aproximado de 45 minutos.



Figura 30. Expulsión de espermatozoides (izquierda) y ovocitos (derecha) a partir de una puesta inducida

### **Fertilización de gametos**

Los gametos de machos y hembras son colectados por separado y evaluados al microscopio, se utiliza como criterio de buena calidad la esfericidad de los ovocitos y la alta movilidad de los espermatozoides.

Los ovocitos se tamizan con una malla de 40 micras y se transfieren a un recipiente con agua de mar filtrada ( $1\ \mu\text{m}$ ) y esterilizada (UV) a temperatura de  $21\pm 1^\circ\text{C}$ . Por último se realiza la fertilización agregando los espermatozoides, en relación ovocito/espermatozoides de 1:10 (Beaumont et col., 2004).

El éxito de la fertilización se verifica por la formación de la membrana vitelina, observable al microscopio, aproximadamente 20 minutos después de agregados los espermatozoides. Posteriormente se eliminan los espermatozoides sobrantes poniendo los huevos fertilizados en un tamiz de 40 micras y lavándolos suavemente con agua

debidamente tratada. Los huevos retenidos en este tamiz son depositados en placas de Petri (Fig. 31).

### Desarrollo embrionario

- **Efecto de la densidad inicial de huevos para el óptimo desarrollo embrionario**

Para estudiar el efecto de la densidad inicial de huevos (experimento 1), estos se distribuyeron en placas de Petri con 50 ml de agua de mar tratada, en densidades de 20, 50, 100, 200 y 400 huevos  $\text{cm}^{-2}$  (Fig. 31).

Las larvas fueron inspeccionados después de aproximadamente 48 horas. Se evaluaron, mediante el microscopio óptico, los porcentajes de larvas-D morfológicamente normales (normalidad) de muestras arbitrarias de aproximadamente 100 larvas. Los cultivos se mantuvieron a  $21\pm 1^\circ\text{C}$ , dejándolos sin aeración y sin alimento. El experimento se realizó por triplicado

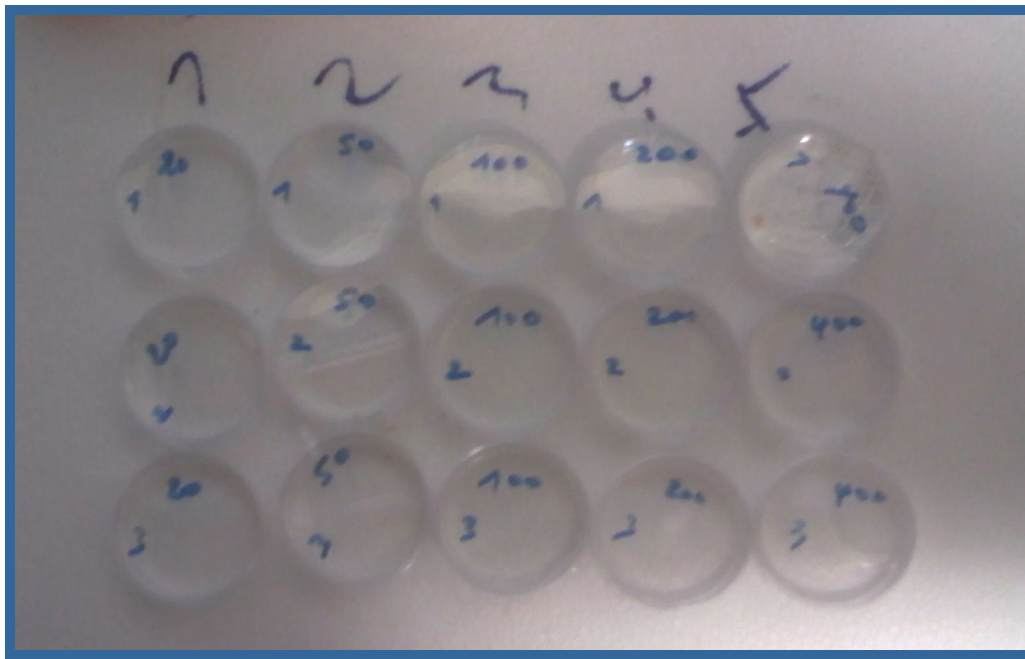


Figura 31. Incubación de embriones en diferentes densidades y en triplicados

- **Estudio del desarrollo embrionario**

Para el estudio de los estadios del desarrollo embrionario de *P. Perna* (experimento 2), muestras de 100 ml tomadas cada hora de los tanques del cultivo embrionario fueron observadas bajo el microscopio óptico, tomando como referencia las características morfológicas de las fases embrionarias descritas para *Mytilus galloprovincialis* por Ruiz et col. (2008) ya que no existe información bibliográfica detallada para *Perna perna*. El

tiempo de límite entre las fases fue establecido como aquel en el cual el 50% de la muestra había logrado una fase específica. . El experimento se realizó por triplicado

### **Análisis estadístico**

Los resultados fueron tratados usando ANOVA de una vía y las medias se compararon mediante el test de Duncan ( $P < 0.05$ ) con el programa SPSS 15.0 para Windows (SPSS. Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

## **RESULTADOS**

### **Efecto de la densidad de huevos en la producción de larvas D**

La Tabla II muestra el porcentaje de las larvas D de *P. perna* normales después 48 horas de la fertilización en diferentes densidades de huevos.

Tabla II

Porcentaje de larvas D de *P. perna* normales cultivadas a diferentes densidades de huevos (huevos.cm<sup>-2</sup>) 48 h después de la fertilización a  $21 \pm 1$  ° C.

<b>Densidad (Huevos cm<sup>-2</sup>)</b>	<b>Larvas D normales (%) (<math>\pm</math>SD)</b>
20	76.6 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>
50	78.7 $\pm$ 4.6 <sup>a</sup>
100	66.2 $\pm$ 7.1 <sup>a</sup>
200	46.5 $\pm$ 4.1 <sup>b</sup>
400	40.5 $\pm$ 6.3 <sup>b</sup>

La densidad de huevos fertilizados tuvo un efecto significativo en el desarrollo de las larvas velígeras normales (Fig. 32). El porcentaje de normalidad de las larvas no fue significativamente diferente entre las densidades de 20, 50 y 100 huevos cm<sup>-2</sup> (77, 79 y 66% respectivamente) Sin embargo, el porcentaje de larvas D normales fue significativamente inferior cuando los huevos se inocularon a densidades de 200 y 400 por centímetro cuadrado (46y 40 % respectivamente).



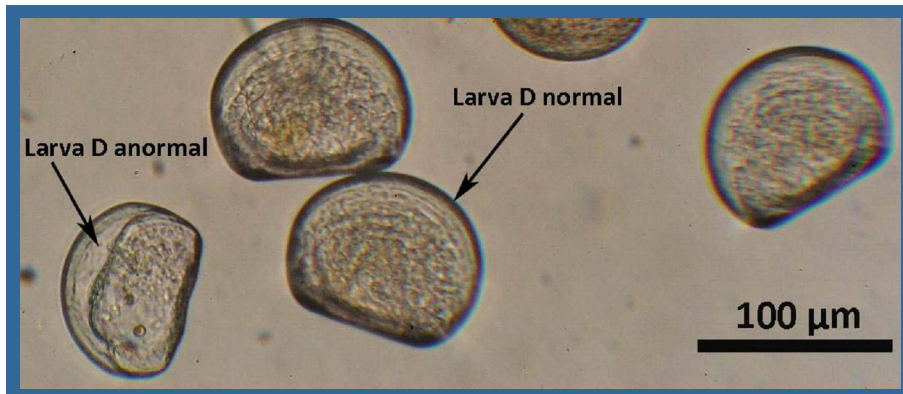


Figura 32. Larvas D (normal y anormal)

### Desarrollo embrionario

Del total de animales acondicionados (n= 50, 4 tanques), fueron 34 mejillones (23 hembras y 11 machos) los que respondieron al shock termal. Los restantes no llegaron a desovar.

El desarrollo embrionario del *P. perna* comenzó con la formación del cigoto después de la fecundación y la separación de la membrana de fecundación, dejando un área transparente entre ella y el contenido del ovocito al separarse de la masa de vitelo (Fig.33). Posteriormente, 5 minutos post-fecundación, se observó el primer corpúsculo polar. Después de 40 minutos, sucedió el primer evento mitótico que corresponde a la primera segmentación, con la retención del segundo corpúsculo polar en el eje de segmentación (Fig. 34).

A continuación, se observó una serie de divisiones celulares que a 2 horas y 30 minutos post-fecundación dieron origen al estado de mórula (Fig. 35) que en casi 2 horas más se convirtió en una blástula, la cual mostró con nitidez el ectodermo y el blastocele. La blástula presentó cilios en toda su superficie que le permitieron nadar en forma rotatoria (blástula rotatoria). A las 6 horas post-fecundación, se observó el estado de gástrula, con un blastoporo claramente visible. Luego de transcurridas 18 horas, el embrión se convirtió en una larva trocófora, en la cual se distinguió un par de flagelos centrales, de posición anterior o pretrocal, un anillo ciliado en la región media o prototroca y una zona aplanada en la región anterior (Fig. 36). El estado de la larva D se alcanzó a las 40 - 44 horas post-fecundación, con la formación de la primera concha larval con las características valvas en forma D (Fig. 37). En la Tabla III se presenta la secuencia de los distintos estadios de desarrollo embrionario.



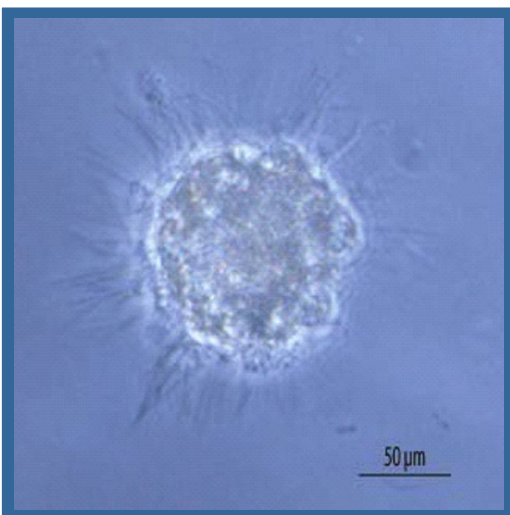
*Figura 33. Membrana de fecundación*



*Figura 34. Embrión en 1ª segmentación*



*Figura 35. Embrión en 2ª segmentación -Mórula*



*Figura 36. Larva trocófora*



*Figura 37. Larva D*

Tabla III

Ocurrencia de las fases del desarrollo embrionario de *Perna perna* a  $21 \pm 1^\circ\text{C}$

Fase del desarrollo embrionario	Tiempo post-fecundación ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ )
Huevos	$T_0$
Liberación del primer corpúsculo polar	5 min
2-células	40 min
4-células	1 h 30 min
8-células	2 h
Mórula	2 h 30 min
Blástula	4 h 30 min
Gástrula	6 h
Trocófora	18 h
Larva D	40-44 h

## DISCUSIÓN

La densidad de los huevos se determina en relación al volumen del recipiente (huevos  $\text{ml}^{-1}$ ) o en relación a la superficie de la parte inferior del recipiente (huevos  $\text{cm}^{-2}$ ). Debido a que los huevos de *P. perna* precipitan rápidamente al fondo, la superficie disponible es un factor crítico en la fase inicial de desarrollo, cuando los embriones no tienen gran movilidad. La determinación de la densidad óptima mediante el volumen del recipiente se recomienda para los embriones móviles (Galley et col., 2009). En bivalvos, pocos estudios han utilizado el volumen de tanques para determinar la densidad óptima de huevos; 30 huevos  $\text{ml}^{-1}$  en *Tivela mactroides*, (Silberefeld et col., 2006), *Argopecten nucleus* y *Nodipecten nodosus* (Velasco et col., 2007), y 20 huevos  $\text{ml}^{-1}$  para *Codakia orbicularis* (Gros et col., 1997) y para *Clinocardium nuttallii* (Liu et col., 2008). Otros estudios usan la superficie del fondo para estudiar la distribución de huevos, y muestran buenos resultados en las bajas densidades; *Pecten maximus* en la densidad de 7 huevos  $\text{cm}^{-2}$ , y también una concentración de 700 huevos  $\text{cm}^{-2}$  ha dado resultados aceptables de larvas normales (Gruffydd y Beaumont, 1970). Mientras que Pérez-Camacho (1977) mostró que los porcentaje de larvas normales son de 84 hasta 97% en el caso de las densidades de incubación de 1000 hasta 3000 huevos  $\text{cm}^{-2}$  de *Venerupis pullastra*.

Para mejillones, Sprung y Bayne (1984) han recomendado bajas concentraciones de embriones (20 huevos  $\text{cm}^{-2}$ ) de *Mytilus edulis*. Sin embargo Galley et col. (2009) han producido más de 80% de larvas normales con densidades medias de huevos de *M. edulis* (200 huevos  $\text{cm}^{-2}$ ). Además, las altas concentraciones de huevos y embriones (óvulos 1000  $\text{cm}^{-2}$ ) siguen siendo recomendadas por los estudios de Helm y Bourne (2004).

En nuestro estudio, las bajas concentraciones de huevos (20, 50 y 100 huevos  $\text{cm}^{-2}$ ) producen un alto porcentaje de larvas normales, estos resultados indican que los embriones

de *P. perna* se desarrollan perfectamente en el rango de densidad de los huevos 20 - 100 huevos cm<sup>-2</sup>. En altas concentraciones de huevos (200 y 400 huevos cm<sup>-2</sup>), se redujo significativamente la producción de larvas normales. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Sprung y Bayne (1984), que utilizaron una concentración inicial de 20 huevos cm<sup>-2</sup> de *M. edulis*.

Los estudios citados han mostrado grandes variaciones en la proporción de larvas normales producidas por diferentes densidades de huevos de bivalvos. Estas variaciones se deben probablemente a las condiciones fisiológicas de los embriones (Loosanoff y Davis, 1963), la variación genética (Beaumont y Budd, 1983 y Galley et col., 2009), o la calidad del agua (Utting y Helm, 1985).

Con respecto al perfil del desarrollo embrionario, nuestro trabajo es el primer estudio sobre la morfología de la embriología del mejillón *P. perna* utilizando microscopía óptica. Estudios previos han investigado diversos aspectos del desarrollo embrionario y larvario de otras especies de bivalvos (Madrones-Ladja, 1997; Mouëza et col., 2006; Velasco et col., 2007; Ruiz et col., 2008; Da Costa y col., 2008; Liu et col., 2008). El desarrollo embrionario de *P. perna* tiene un perfil más o menos similar a los de otros bivalvos: *Mytilus galloprovincialis* (Ruiz et col., 2008) y *Ensis arcuatus* (Da Costa et col., 2008), aunque ligeramente más rápido. Gástrulas se obtienen 6-7 horas después de la fecundación, trocóforas típicas en 11 horas después y las velíferas se desarrollan en 40 a 44 horas a 21 ° C mientras que se requieren alrededor de 45 horas a 17 ° C en el caso de *M. galloprovincialis*.

Se sugiere la microscopía electrónica como una herramienta adecuada para elucidar completamente las fases del desarrollo embrionario de *P. perna*.

## Línea 3: Optimización de las técnicas de producción de semilla

### TAREA 3.1.: Desarrollo embrionario y efecto de diversas microalgas sobre el crecimiento de larvas del mejillón *Perna perna* (L., 1758)

#### INTRODUCCIÓN

El cultivo de mejillón tiene una larga historia (desde el siglo XIII). Los principales productores de mejillones son China, Corea, España, Países Bajos, Dinamarca, Francia y Nueva Zelanda. En 2006, 1.8 millones de toneladas de mejillones se produjeron en todo el mundo (FAO, 2008). En 2007, España fue el segundo productor mundial del mejillón (250.000 t) después de China (450.000 t por año) (Figueras, 2007). Las principales especies de interés en España son el mejillón mediterráneo *Mytilus galloprovincialis* en la Península Ibérica (Figueras, 1989) y el mejillón marrón *Perna perna* en las Islas Canarias (Carrillo et col., 1992). *P. perna*, es uno de los mariscos más interesantes del archipiélago canario. Sin embargo, la sobreexplotación de este recurso, motivó la necesidad de establecer un amplio período de veda para su extracción por el Gobierno de Canarias, con objeto de intentar favorecer su recuperación y posterior aprovechamiento racional (*Orden de 16 de julio de 2004, (BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004)*). En otras áreas geográficas, el cultivo de mejillón se ha basado en la colocación de cuerdas de semillas silvestres. Sin embargo, los modelos de regeneración natural puede ser influenciada por una serie de factores ambientales y biológicas (Marshall et col., 2010). El criadero de mejillones proporcionaría una fuente alternativa de semilla de mejillón para solucionar problemas del medio ambiente (Spencer, 2002). Por lo tanto, la instalación de criaderos controlados de mejillón permitiría una recuperación más rápida de las poblaciones silvestres y promover el desarrollo del cultivo comercial de esta especie.

A pesar de que se han llevado a cabo algunos estudios de laboratorio sobre el desarrollo larvario de mejillones (Bayne, 1965; Beaumont y Budd, 1982; Sprung, 1984; Leonardos y Lucas, 2000a; Galley et col., 2009; Ragg et col. 2010), éstos son escasos, siendo aún necesaria la optimización de la nutrición y el cultivo larvario para aumentar las tasas de crecimiento y garantizar una mayor producción de semillas (Galley et col., 2009; Ragg et col., 2010). Dado que los estudios para optimizar las condiciones del cultivo son necesarios en el caso de las nuevas especies cultivables, nuestro estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la densidad de embriones en la calidad de las larvas velíferas, y el efecto de diferentes dietas de microalgas sobre el crecimiento larvario del mejillón marrón *P. perna*.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

##### Desarrollo larvario

48 h después de la eclosión, las larvas velíferas se pasan a tanques de cultivo larvario con una densidad de 10 larvas ml<sup>-1</sup>. La temperatura de cultivo se mantiene a 21±1°C y se añade alimento todos los días, a una concentración progresiva de 40 células l<sup>-1</sup> hasta 80 células l<sup>-1</sup> (según la edad de las larvas). Los cultivos se mantienen en circuito

cerrado con una aereación suave a través de difusores de aire. Los tanques larvarios se vacían cada tercer día, siendo las larvas retenidas sobre tamices de tamaño apropiado al crecimiento de la larva (63 a 150  $\mu\text{m}$ ). Las larvas se lavan con cuidado, y los tanques se limpian y se vuelven a llenar con agua de mar filtrada, esterilizada y sin adición de antibióticos. El experimento se termina cuando las larvas se fijan y comienza la metamorfosis.

Cada 3 días, se tomaron muestras para determinar su estadio larval, longitud y altura bajo microscopio óptico y el software Image-Pro Plus 4.1.0 del paquete (Media Cybernetics L.P., Carlsbad, USA).

### **Producción de microalgas y la composición en lípidos**

Las microalgas utilizadas en la alimentación de las larvas fueron cultivadas según las condiciones indicadas en el capítulo anterior. Se cultivaron cuatro especies: *Isochrysis galbana* (clon T-ISO, denominada Tahitian *Isochrysis*), *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum* y *Skeletonema costatum*.

Las larvas fueron alimentadas con una combinación de los flagelados *I. galbana* y las diatomeas *C. calcitrans*, *S. costatum* y *P. tricornutum*.

Las dietas utilizadas fueron:

- 1 - (Is): *Isochrysis galbana*,
- 2 - (Is+Ch): una mezcla de 1:1 de *I. galbana* y *C. calcitrans*,
- 3 - (Is+Sk): una mezcla de 1:1 de *I. galbana* y *S. costatum*,
- 4 - (Is+Ph): una mezcla de 1:1 de *I. galbana* y *P. tricornutum*.

Las muestras de algas centrifugadas fueron colocadas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  y los lípidos se extrajeron según la técnica de Folch et col. (1957). Los FAMES fueron obtenidos por transesterificación de los lípidos según el método descrito por Christie (1982) purificada en la sílica NH<sub>2</sub> (sep-pak, Waters) y separados y cuantificados en cromatografía de gases Shimadzu (GC-14A, Shimadzu, Kyoto, Japón), según las condiciones descritas por Izquierdo et col. (1990) e identificado por comparación con estándares previamente caracterizado.

### **Análisis estadístico**

Los resultados fueron tratados usando ANOVA de una vía y las medias se compararon mediante el test de Duncan ( $P < 0.05$ ) con el programa SPSS 15.0 para Windows (SPSS. Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

## **RESULTADOS**

### **Perfil de ácidos grasos en las microalgas cultivadas**

Los ácidos grasos totales fueron aislados e identificados en las cuatro especies de algas (Tabla IV). El contenido en lípidos de la microalga *I. galbana* (59%), fue significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) que el del resto de las dietas experimentales siendo el más bajo el presente en la diatomea *C. calcitrans* (18%). Del mismo modo, *I. galbana*

presentó un contenido en DHA (22:6 n-3) significativamente mayor (9%) que el del resto de los tratamientos, entre el que no hubo diferencias significativas (1.2-2.3%). Por el contrario, el porcentaje de ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) fue significativamente diferente entre todas las dietas, con un mayor contenido en las diatomeas *P. tricornutum* (23%), *S. costatum* (21%) y *C. calcitrans* (19%) en comparación con *I. galvana* (0.8%). En cuanto al ácido araquidónico (ARA, 20:4 n-6), su contenido fue significativamente mayor en *C. calcitrans* (4%) y menor en la microalga *I. galvana* (0.4%). Los ácidos grasos n-6 PUFA siguieron el mismo patrón con los niveles más altos en las diatomeas.

Tabla IV Acidos grasos de las dietas microalgales. % PS (SD)

	<i>I. galbana</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>P. tricornutum</i>	<i>S. costatum</i>
14:0	15.48 (1.84)	12.35 (0.02)	4.66 (0.52)	3.14 (0.10)
14:1n-7	0.00	0.16 (0.03)	0.84 (0.99)	0.10 (0.01)
14:1n-5	1.86 (0.41)	0.90 (0.11)	0.55 (0.77)	0.97 (0.05)
15:0	0.73 (0.12)	0.40 (0.14)	0.31 (0.14)	0.13 (0.01)
15:1n-5	0.27 (0.03)	0.15 (0.01)	0.06 (0.03)	0.04 (0.01)
16:0ISO	0.15 (0.01)	0.05 (0.01)	0.04 (0.01)	0.07 (0.01)
16:0	12.27 (1.66)	8.58 (1.07)	10.05 (0.23)	13.94 (0.57)
16:1n-7	13.77 (0.04)	22.91 (0.48)	27.76 (0.77)	33.92 (0.92)
16:1n-5	0.26 (0.03)	1.93 (0.02)	0.69 (0.01)	0.18 (0.01)
16:2n-6	1.02 (0.09)	2.26 (0.1)	0.77 (0.06)	1.32 (0.04)
16:2n-4	1.23 (0.27)	3.80 (0.02)	4.94 (0.04)	2.36 (0.07)
17:0	1.22 (0.30)	12.37 (0.35)	10.44 (0.24)	5.56 (0.15)
16:3n-4	0.11 (0.01)	1.38 (0.11)	1.11 (0.07)	0.14 (0.01)
16:3n-1	0.11 (0.01)	0.20 (0.01)	0.24 (0.04)	0.16 (0.01)
16:4n-3	0.30 (0.02)	0.34 (0.01)	0.40 (0.01)	0.26 (0.01)
18:0	1.73 (1.08)	2.39 (1.29)	0.43 (0.04)	1.20 (0.41)
18:1n-9	7.17 (0.19)	1.04 (0.28)	2.57 (0.37)	1.93 (0.27)
18:1n-7	2.32 (0.05)	0.88 (0.11)	1.05 (0.36)	2.80 (0.07)
18:1n-5	0.11 (0.01)	0.12 (0.01)	0.40 (0.01)	1.43 (0.02)
18:2n-9	0.01	0.08 (0.01)	0.19 (0.02)	0.07 (0.01)
18:2n-6	9.24 (0.90)	0.96 (0.05)	2.94 (0.02)	1.58 (0.89)
18:2n-4	0.23 (0.01)	0.29 (0.01)	0.00	0.97 (0.01)
18:3n-6	1.15 (0.12)	0.67 (0.03)	1.07 (0.07)	0.44 (0.01)
18:3n-4	0.00	0.05 (0.01)	0.00	0.00
18:3n-3	5.30 (1.26)	0.86 (0.07)	0.29 (0.01)	0.17 (0.04)
18:3n-1	0.00	0.00	0.05 (0.01)	1.09 (0.02)
18:4n-3	11.64 (1.34)	0.32 (0.01)	0.59 (0.05)	0.33 (0.04)
18:4n-1	0.02 (0.01)	0.03 (0.01)	0.00	0.01
20:0	0.13 (0.04)	0.05 (0.01)	0.01	0.02 (0.01)
20:1n-5	0.09 (0.08)	0.00	0.02 (0.01)	0.17 (0.02)
20:2n-9	0.00	0.00	0.00	0.00
20:2n-6	0.03 (0.01)	0.05 (0.01)	0.13 (0.01)	0.03 (0.01)
20:3n-9	0.00	0.00	0.00	0.01
20:3n-6	0.02 (0.01)	0.03 (0.01)	0.02 (0.01)	0.03 (0.01)
20:4n-6 (ARA)	0.42 (0.13) <sup>c</sup>	4.08 (0.07) <sup>a</sup>	1.09 (0.08) <sup>b</sup>	1.05 (0.07) <sup>b</sup>
20:3n-3	0.03 (0.02)	0.01	0.29 (0.01)	0.09 (0.01)
20:4n-3	0.03 (0.01)	0.02	0.16 (0.05)	0.09 (0.01)
20:5n-3 (EPA)	0.81 (0.23) <sup>d</sup>	18.65 (0.88) <sup>c</sup>	23.37 (0.11) <sup>a</sup>	20.60 (0.26) <sup>b</sup>
22:1n-11	0.11 (0.01)	0.25 (0.04)	0.04 (0.01)	0.88 (0.01)
22:1n-9	0.11 (0.02)	0.08 (0.03)	0.02 (0.01)	0.14 (0.02)
22:4n-6	0.05 (0.01)	0.00	0.01	0.28 (0.05)
22:5n-6	1.06 (0.09)	0.06 (0.01)	0.02 (0.01)	0.00
22:5n-3	0.10 (0.05)	0.02 (0.01)	0.07 (0.04)	0.44 (0.01)
22:6n-3 (DHA)	9.30 (2.77) <sup>a</sup>	1.25 (0.16) <sup>b</sup>	2.30 (0.65) <sup>b</sup>	1.90 (0.06) <sup>b</sup>
SFA (Ac. Grasos. Saturados)	31.71 (3.35)	36.18 (2.11)	25.94 (0.46)	24.05 (0.17)
MUFA	28.47 (1.71) <sup>b</sup>	28.30 (0.97) <sup>b</sup>	33.60 (0.23) <sup>ab</sup>	41.11 (0.67) <sup>a</sup>
PUFA	39.07 (4.06)	35.39 (3.09)	40.06 (0.68)	33.40 (0.52)
n-6 PUFA	1.58 (0.94) <sup>b</sup>	8.10 (2.07) <sup>a</sup>	6.06 (0.11) <sup>a</sup>	4.73 (0.75) <sup>ab</sup>
n-3 PUFA	25.11 (2.50)	21.46 (1.11)	27.47 (0.69)	23.88 (0.11)
n-6 LC-PUFA	1.16 (0.91) <sup>b</sup>	4.22 (0.07) <sup>a</sup>	1.28 (0.07) <sup>b</sup>	1.39 (0.11) <sup>b</sup>
n-3 LC-PUFA	10.27 (3.10) <sup>a</sup>	1.30 (0.16) <sup>b</sup>	2.81 (0.74) <sup>b</sup>	2.52 (0.08) <sup>b</sup>
% Lipid (peso seco)	58.79 (6.81) <sup>a</sup>	17.69 (2.05) <sup>c</sup>	26.54 (1.37) <sup>bc</sup>	36.79 (2.77) <sup>b</sup>
Total FA (mg/g de lípidos)	200.58 (16.17) <sup>a</sup>	46.73 (2.49) <sup>c</sup>	116.94 (0.16) <sup>b</sup>	130.97 (17.01) <sup>b</sup>
Total FA (mg / g PS de las algas)	341.88 (12.09) <sup>b</sup>	265.13 (16.68) <sup>c</sup>	441.16 (22.10) <sup>a</sup>	355.26 (19.50) <sup>b</sup>



### Desarrollo larvario y efecto de las dietas en el crecimiento

La figura 38 muestra el crecimiento de las larvas de *P. perna* en talla y peso durante los primeros 26 días de cultivo. A las 48 horas post-fecundación, las larvas **D**, con un tamaño inicial de 88.2 x 66.5  $\mu\text{m}$ , presentaron un velo ciliado retráctil y un par de flagelos centrales, los que se extendían fuera de las valvas durante la natación. En esta fase, las larvas mostraron un sistema digestivo en desarrollo ocupando la mayor parte de la cavidad corporal en la región cercana de la charnela (Fig. 39).

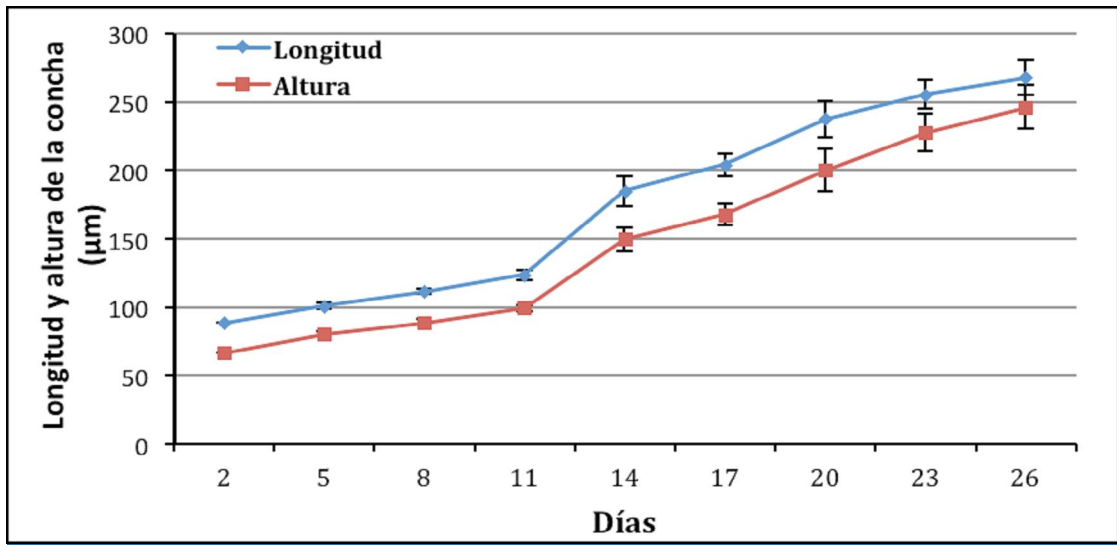


Figura 38. Crecimiento de las larvas de *P. perna* a  $21\pm 1^\circ\text{C}$  hasta el día 26 de cultivo

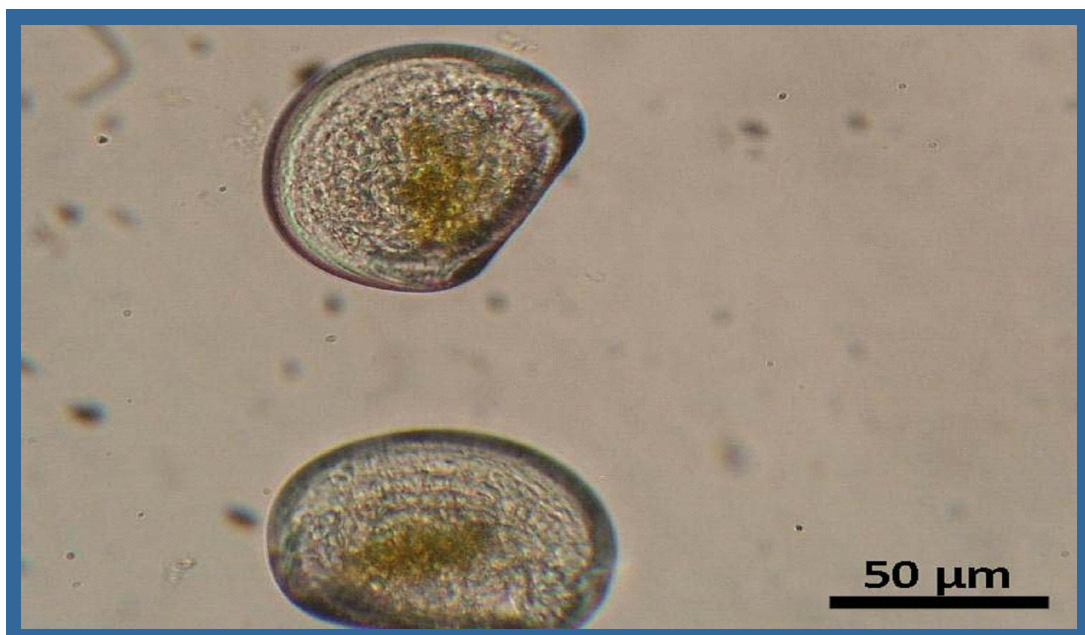
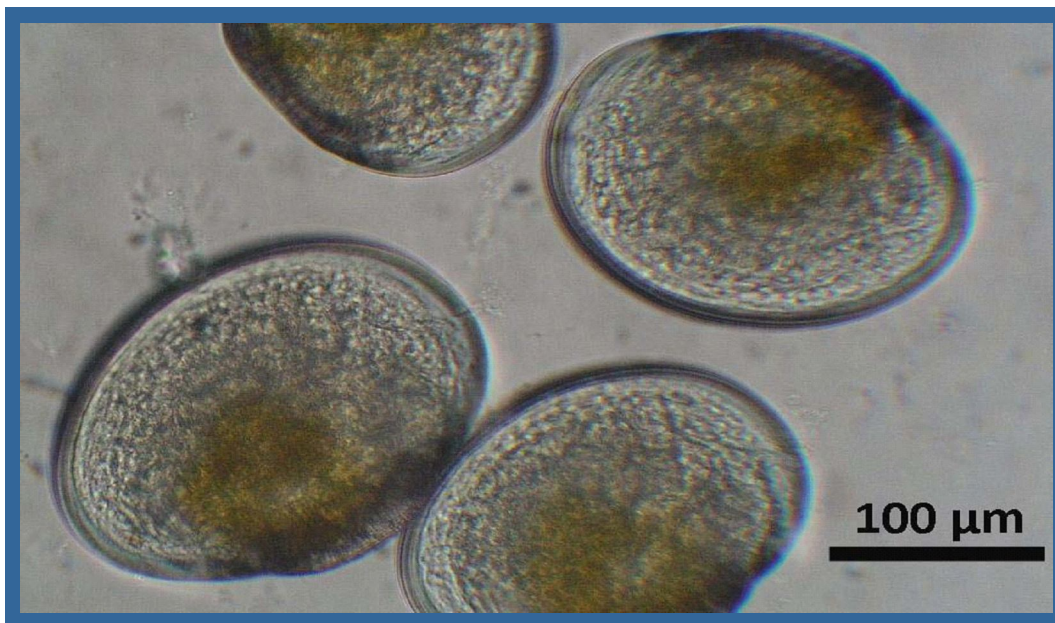


Figura 39. Larva-D

La aparición de la larva umbonada comenzó ligeramente a partir del día 8 post-fecundación y se caracterizó por un crecimiento alométrico de la concha en la región del umbo, provocando de este modo un cambio en la curvatura de la charnela, que dejó de ser una estructura recta, asumiendo un perfil semi-curvo abultado sobre la superficie de las valvas con unas dimensiones de (123.5 x 99.2  $\mu\text{m}$ ). Durante esta fase, el tamaño del velo ciliado disminuyó notablemente, al igual que la capacidad natatoria larval en la columna de agua, aunque el movimiento ciliar fue muy activo. El estómago continuó siendo la estructura interna más visible. Al final de esta fase, a los 14 días post-fecundación, la talla promedio fue de 184.6 x 149.6  $\mu\text{m}$ ) (Fig. 40).



*Figura 40. Larva umbonada*

A los 20 días post-fecundación, las larvas llegaron a la etapa pediveliger, con un tamaño de 237.2 x 200.1  $\mu\text{m}$ . Esta fase larval se caracterizó por la presencia de un pie bien desarrollado y funcional, que se extendía continuamente fuera de las valvas. También se inició la formación de varios septos branquiales y se observó una notable disminución del tamaño del velo. Este estado se completó el día 26 post-fecundación, con un comportamiento larval de muy poca actividad natatoria, preferentemente en el fondo de los tanques; la longitud y altura máxima promedio de las valvas fueron 267.7 y 246.1  $\mu\text{m}$  respectivamente (Fig. 41).



*Figura 41. Larva pedivelígera*

Las larvas cultivadas y alimentadas con las diferentes dietas muestran tasas de crecimiento similares durante los primeros 11 días del cultivo, con las tasas de crecimiento general de 3.9  $\mu\text{m}/\text{día}$  en longitud y 3.7  $\mu\text{m}/\text{día}$  en altura (Tablas V y VI). Sin embargo, el efecto de la dieta es significativo desde el día 14 post-fecundación (Fig. 42 y 43), con altas tasas de crecimiento en comparación con la fase anterior (Tablas V y VI).

Tabla V

Crecimiento de las larvas (longitud:  $\mu\text{m}/\text{día}$ ) alimentadas con las dietas experimentales a  $21\pm 1^\circ\text{C}$

	<b>Dietas</b>			
	<i>Is</i>	<i>Is+Ch</i>	<i>Is+Ph</i>	<i>Is+Sk</i>
<b>1<sup>ra</sup> fase: 2d-11d</b>	3.4 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	4.1 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	3.9 $\pm$ 0.6 <sup>ab</sup>	4.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
<b>2<sup>da</sup> fase: 11d-26d</b>	8.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	9.4 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>	10.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	10.1 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
<b>Tasa general: 2d-26d</b>	6.7 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	7.4 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	7.8 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	7.9 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>

Tabla VI  
Crecimiento de las larvas (altura:  $\mu\text{m}/\text{día}$ ) alimentadas con las dietas experimentales a  $21\pm 1^\circ\text{C}$

	Dietas			
	<i>Is</i>	<i>Is+Ch</i>	<i>Is+Ph</i>	<i>Is+Sk</i>
<b>1<sup>ra</sup> fase: 2d-11d</b>	3.3 $\pm$ 0.0	3.7 $\pm$ 0.0	3.7 $\pm$ 0.5	3.8 $\pm$ 0.2
<b>2<sup>da</sup> fase: 11d-26d</b>	7.9 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	9 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	9.6 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	10.1 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>
<b>Tasa general: 2d-26d</b>	6.2 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	7.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	7.4 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	7.7 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>

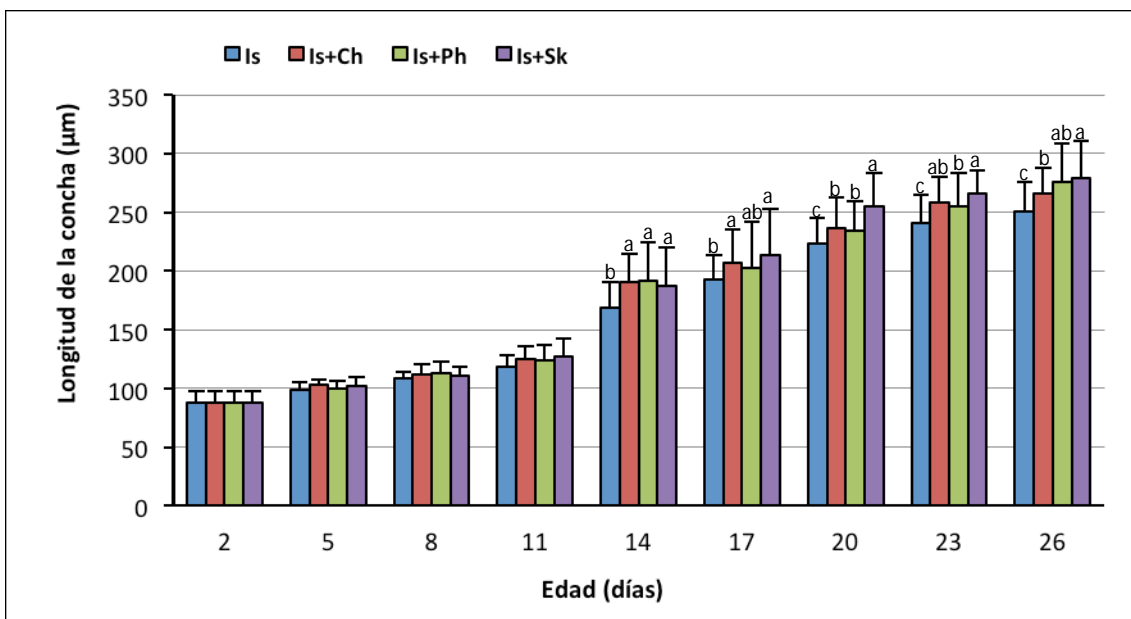


Figura 42. Efecto de las dietas sobre el crecimiento en longitud de las larvas de *P. perna*

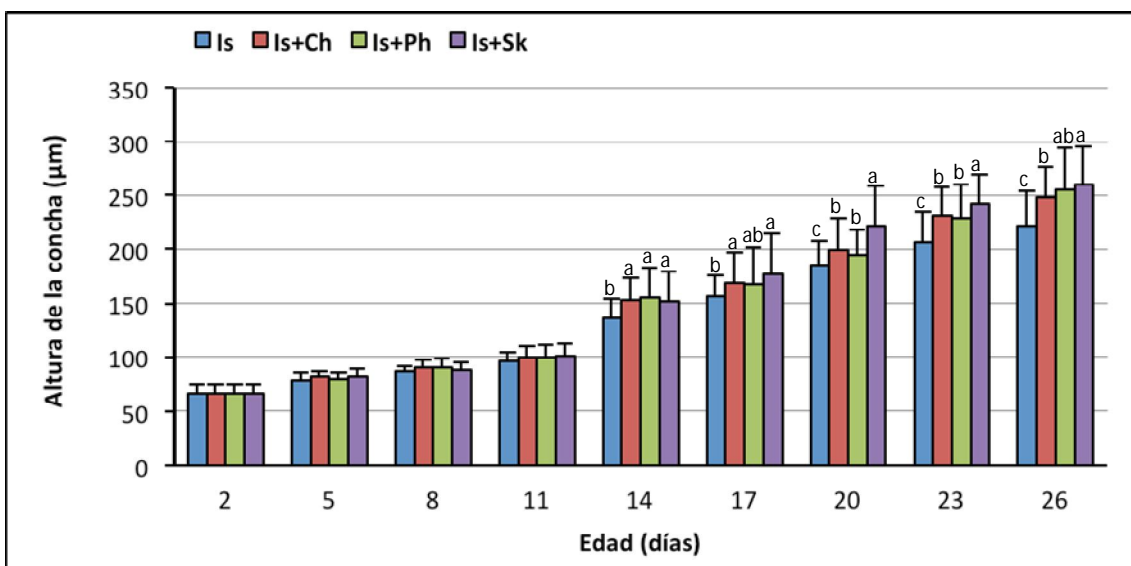


Figura 39: efecto de las dietas sobre el crecimiento en altura de las larvas de *P. perna*.

## DISCUSIÓN

El desarrollo larvario del mejillón marrón *P. perna* se caracterizó por dos fases de crecimiento. Una fase mixotrófica caracterizada por una baja tasa de crecimiento entre el día 2 post-fecundación (larva-D) y día 11 post-fecundación (larva umbonada). Durante la segunda fase (fase exotrófica), las tasas de crecimiento aumentaron bruscamente desde el estadio de larva umbonada hasta el principio del estado de larva pedivilegera. Al acercarse la fase de metamorfosis (día 26), se observó una disminución en el crecimiento. En esta fase de desarrollo, el descenso de la tasa de ingestión es completamente normal, y se corresponde con el proceso de desaparición del velo y la aparición de los primeros rudimentos de branquias, con poca o nula capacidad de capturar alimento. Por otro lado, en esta fase la larva pasa parte del tiempo en el fondo, cerrada o moviéndose sobre el pie, con el velo retraído, lo que impediría, o reduciría, su capacidad de capturar alimento.

El modelo de crecimiento durante la etapa mixotrófica puede estar relacionado con el desarrollo incompleto del sistema digestivo de las larvas (Rico-Villa et al., 2009). Gallager (1988) afirmó que las larvas de bivalvos jóvenes ( $\leq 100$  micras de longitud) tienen un esófago estrecho y un volumen de intestino que puede limitar el tamaño y el número de partículas ingeridas. Durante esta fase, el metabolismo se basa sobre las reservas acumuladas en los huevos (Bayne, 1983). Durante la fase exotrófica, las larvas acumulan reservas suficientes que les permitan satisfacer la demanda de energía durante el proceso de metamorfosis y asegurar su capacidad de supervivencia (Haws et al., 1993). En consecuencia, la acumulación y utilización de sustratos energéticos proporcionan la viabilidad de las larvas antes de la metamorfosis, generalmente relacionados con el catabolismo de las proteínas y los lípidos (Moran y Manahan, 2004). El movimiento y la alimentación se inhiben porque el velo es absorbido y sustituido por las branquias y las larvas inician la vida bentónica (Cannuel y Beninger, 2006).

El perfil de ácidos grasos de las microalgas cultivadas y usadas para la alimentación de las larvas de *P. perna*, son comparables a los reportados previamente (Brown et al., 1997; Fernández-Reiriz et al., 1998; Leonardos y Lucas, 2000b; Pettersen et al., 2010). Si bien ésta varía considerablemente en función de las condiciones de cultivo (Thompson et al., 1996).

Este estudio muestra claramente que la composición de las algas de las dietas puede afectar significativamente el funcionamiento del criadero de las larvas de *P. perna*. Las mayores tasas de crecimiento se observaron en las larvas alimentadas con las tres dietas mixtas (Is+Ch, Is+Ph y Is+Sk) en comparación con la dieta monoespecífica (Is). Estos resultados coinciden con estudios previos que demuestran que las dietas mixtas satisfacen más fácilmente los requerimientos nutricionales del mejillón, produciendo mejores crecimientos que las basadas en una sola especie (Widdows, 1991; Rico-Villa, 2006; Galley et al., 2009). Las diatomeas *C. calcitrans*, *P. tricornutum* y *S. costatum* aumentan significativamente el crecimiento de las larvas. La variación entre las tasas de crecimiento y la dieta fue claramente evidente en larvas de *Mytilus galloprovincialis* criadas con una dieta de alto nivel de *C. calcitrans* (Pettersen et al., 2010). Rico-Villa et al. (2006) y Ragg et al. (2010) consideran que la calidad de los lípidos, y no su cantidad, es primordial para la determinación de la calidad del alimento, en particular la presencia de los ácidos grasos n-3: EPA (C20: 5n-3) y DHA (C22: 6n-3). Además Knauer y Southgate (1999) muestran que el valor nutricional de las algas para la mayoría de las larvas de bivalvos está parcialmente determinada por su composición en los esenciales ácidos grasos EPA y DHA. En este estudio, los mayores porcentajes de EPA de las diatomeas *C. calcitrans*, *P.*

*tricornutum* y *S. costatum*, en comparación con el de *I. galbana*, coinciden con los trabajos de Delaunay et al. (1993), Rico-Villa et al. (2006) y Pettersen et al. (2010). Los menores niveles de DHA de las diatomeas en comparación con los de *I. galbana* se corresponden con los encontrados por Delaunay et al. (1993), Rico-Villa et al. (2006) y Pettersen et al. (2010). DHA es indispensable para el desarrollo de bivalvos jóvenes (Enright et al., 1986), encontrándose en niveles muy bajos en las diatomeas. Sin embargo *I. galbana* contiene niveles relativamente altos de este ácido graso. Esto puede explicar las mayores tasas de crecimiento de larvas de *P. perna* alimentadas con dietas mixtas en comparación con la dieta monoespecífica (*I. galbana*). Galley et col. (2009) también observaron que las larvas de *M. edulis* crecieron más rápido cuando son alimentados con una dieta mixta de *C. calcitrans* y *I. galbana* que con las dietas monoespecíficas de estas microalgas.

### TAREA 3.2.: Cultivo de postlarvas

Al cabo de 26 días las larvas, ya de unos 0,26 mm, desarrollan un pie musculoso e inician la vida bentónica. Pierden el velo que les ha servido para nadar y filtrar alimento y comienzan a desarrollar las nuevas branquias. En ese momento, las larvas comienzan a buscar sustrato para fijarse. También se fijan a superficies, y unas a otras, con los hilos del bicho. A partir de ese momento se les pasa a bandejas sumergidas con fondo de malla y con circulación forzada. Ahí siguen creciendo, recibiendo el mismo alimento que las larvas, hasta la talla de 1 ó 2 mm.

El proceso de metamorfosis concluye con la aparición de la disoconcha, claramente distinguible de la protoconcha (primera concha de la larva), por su diferencia en la pigmentación (marrón intensa) y rápido crecimiento (Fig. 40).

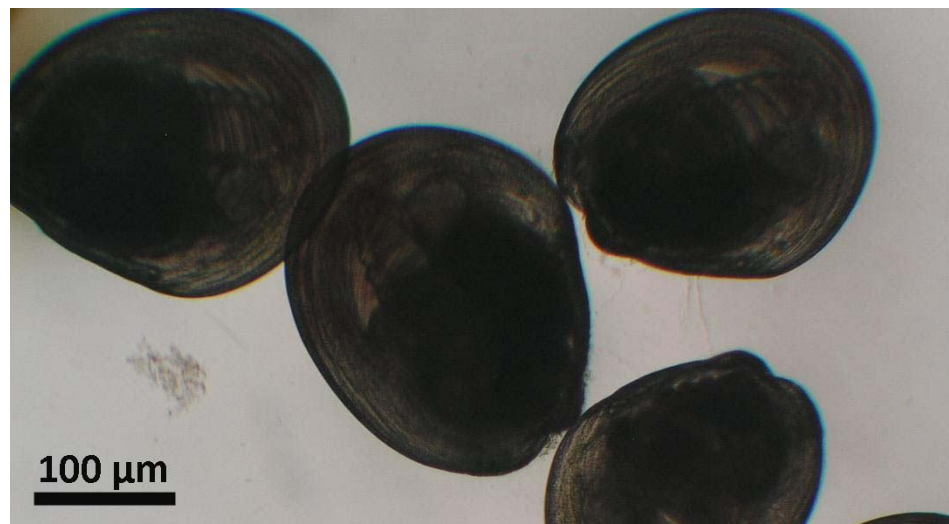
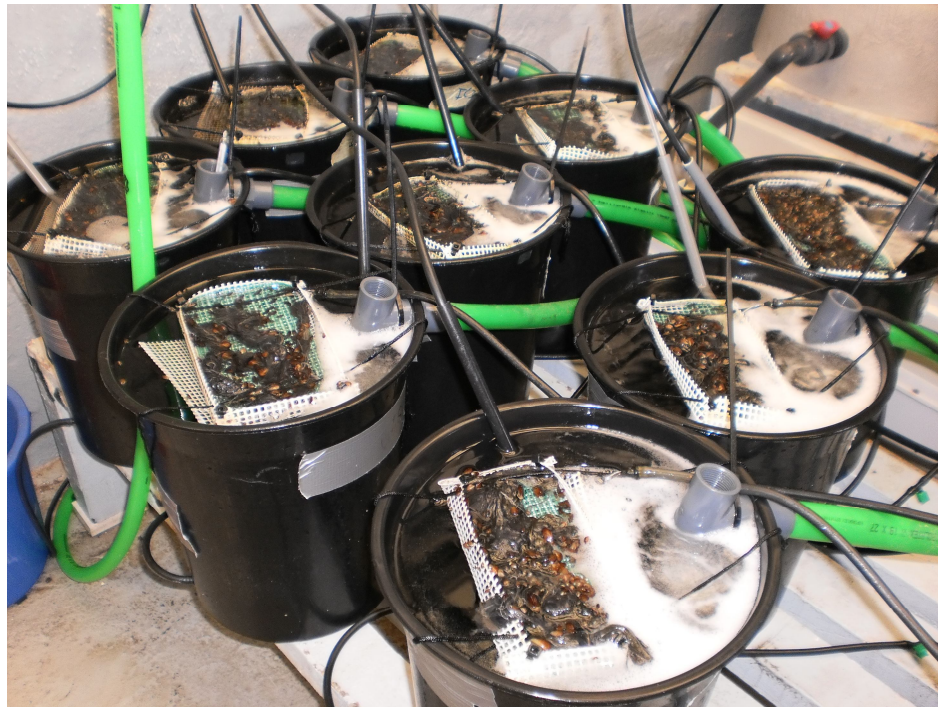


Figura 40: Aspecto general de las semillas

En ese momento se consideran postlarvas, las cuales son separadas de las larvas, mediante tamizado con malla de 250  $\mu$ m. Una vez separadas, las postlarvas se dejan en mallas suspendidas en estanques de 10 litros (Fig. 41). Con sistema de recirculación de agua, el tratamiento del agua de cultivo es igual al del cultivo larval.



*Figura 41: Sistema de cultivo postlarvario*

Las postlarvas se alimentan diariamente con tres dietas mixtas: una mezcla de *I. galbana* y *C. calcitrans* (1:1); *I. Galbana* y *S. costatum* (1:1) y *I. galbana* y *P. tricornutum* (1:1). Cada tres días se cambia el agua en los tanques y se lavan los mallas de semilla, con un suave chorro de agua de mar filtrada y esterilizada.

Estos procedimientos se efectúan hasta que las postlarvas alcanzan un tamaño entre los 1,5 mm a 2 mm (semillas), para lo cual transcurren 150 días aproximadamente.

Durante el cultivo, se tomaron muestras mensuales en cada tanque (20 semillas) y se midió los parámetros biométricos de la concha (Longitud, altura y anchura) y ponderales (peso total del animal).

## BIBLIOGRAFIA

- Abada-Boudjema, Y., and Dauvin, J., 1995. Recruitment and life span of two natural mussel populations of *Perna perna* (Linnaeus) and *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck) from the Algerian Coast. *J. Moll. Stud.*, 61: 467- 481.
- Aguirre, M.P.: 1980. Biología del mejillón (*M. edulis*) de cultivo en Ría de Vigo. *Bol. Inst. Esp. Oceano.* 5 (3): 107-160.
- Bayne, B.L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia* 2, 1-47
- Bayne, B.L., 1983. Physiological ecology of marine molluscan larvae. In: Verdonk, N.H.(Ed.), *The Mollusca*, vol. III. Academic Press, New York, pp. 299–343.
- Bayne, B.L., Bubel, A., Gabbott, P.A., Livinstone, D.R., Lowe, D.M., Moore, M.N., 1982. Glycogen utilisation and gametogénesis in *Mytilus edulis* (L.). *Mar. Biol. Lett.*, 3: 89-105.
- Beaumont , A.R., Budd, M.D., 1982. Delayed growth of mussel (*Mytilus edulis*) and scalopp (*Pecten maximus*) veligers at low temperatures. *Marine Biology (Berl)* 71, 97-100- doi: 10.1007/BF00396996.
- Beaumont , A.R., Budd, M.D., 1983. Effects of self-fertilisation and other factors on the early development of the scallop *Pecten maximus*. *Marine Biology (Berl)* 76, 285-289. doi: 10.1007/BF00393030.
- Beaumont A, G Turner, A Word & D Skibinski. 2004. Hybridations between *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* and performance of pure species and hybrid veliger larvae at different temperatures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 302: 177-188.
- Benomar, S., 2005. Cycle sexual, cycle des réserves et neurosécrétion chez *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia) dans la baie d'Agadir: approche du contrôle neuroendocrinien sur la gamétogénèse. Thèse d'Etat, Univ. Ibn Tofaïl, Faculté des Sciences, Kénitra, Maroc: 326p.
- Benomar, S., Bouhaimi, A., El Hamidi, F., Mathieu, M., Moukrim, A., 2006. Cycle de reproduction de la moule africaine *Perna perna* (Molusca: Bivalvia) dans la baie d'Agadir: Impact des rejets d'eaux usées domestiques et industrielles. *Biologie & Santé*, vol. 6, 1: 25 – 36.
- Berry, P. F., 1978. Reproduction, growth and production in the mussel, *Perna perna* (Linnaeus), on the east coast of South Africa. Investigational Report n° 48, Oceanographic Research Institute, South African Association for Marine Biological Research, Durban: 28p.
- Bouhaimi, A., 2002. Etude de la biologie des moules *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* et validation de certains biomarqueurs (acétylcholinestérase et peroxydation lipidique) pour l'évaluation de l'état de santé de la baie d'Agadir. Thèse d'Etat. Univ. Ibn Zohr, Faculté des Sciences, Agadir, Maroc: 187p.
- Breese, P. y Robinson, A.: 1981. Razor clams, *Siliqua patula* (Dixon): gonadal development induced spawning and larval rearing. *Aquaculture*, 22: 27-33.
- Brenko, M., y Calabrese, A., 1969. The combined effects of salinity and temperature on larvae of mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 4 (3): 224-226.



- Brown, M.R., Jeffry, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G.A., 1997. Nutritional proprieties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315-331.
- Cáceres-Martínez, J., Figueras, A., 1998. Long-term survey on wild and cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) reproductive cycles in the Ria de Vigo (NW Spain). *Aquaculture*, 162: 141-156.
- Cannuel, R., Beninger, P., 2006. Gill development, functional and evolutionary implications in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia: Ostreidae). *Marine Biology* 149, 547–563.
- Carrillo, M., Bacallado, J.J. y Cruz, T., 1992. Primeros datos sobre el mejillón *Perna perna* (Linnaeus, 1758) en la costa de Fuerteventura (Islas Canarias). *Actas V Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino*. Vol. 2: 411 – 422.
- Carvajal, J. R., 1969. Fluctuación mensual de las larvas y crecimiento del mejillón *Perna perna* (L.) y las condiciones ambientales de la ensenada de Guatapanare. Edo. Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr., Univ. Oriente., Cumana*, 8: 13 – 20.
- Cayre P., 1981. Stocks de mollusques bivalves. *In: Milieu et ressources halieutiques de la Republique Populaire du Congo*, par Fontana, A., ed. Editions de l'ORSTOM, Paris: 313 – 322.
- Christie, W.W., 1982. *Lipid Analysis*. Pergamon, Oxford.
- Crochet N., Hicks, D.W., Poss SG., 1998. Species Summary for *Perna perna*. Gulf States Marine Fisheries Commission, Ocean Springs, Mississippi. URL [www.gsmfc.org/nis/nis/Perna\\_perna.html](http://www.gsmfc.org/nis/nis/Perna_perna.html).
- Da Costa, F.; Darriba, S. and Martínez.Patiño, D., 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffereys, 1865) (Bivalvia: Pharidae). *Journal of Molluscan Studies*, 74: 103-109.
- Da Ros, L., Bressan, M. y Marin, M.G., 1985. Reproductive cycle of the mussel *Mytilus galloprovincialis* in Venice Lagoon (North Adriatic). *Boll. Zool.*, 52: 223-229.
- Danton, E., Kiyomoto, M., Komaru, A., Wada, K.T., Awaji, M., Mathieu, M., 1996. Comparative analysis of storage tissue and insulin-like neurosecretion in diploid and triploid mussels *Mytilus galloprovincialis* Lmk in relation to their gametogénesis cycle. *Invertebr. Repr. Dev.*, 29: 37-46.
- Delaunay, F., Marty, Y., Moal, J., Samain, J.F., 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 173, 163-179.
- Enright, C.T., Newkirk, G.F., Craigie, J.S., Castell, J.D., 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 96, 1-13.
- FAO, 2008. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. World aquaculture production by species groups. <http://www.fao.org/2008>.
- Fernandez-Reiriz, M.J., Labarta, U., Albentosa, M., Perez-Camacho, A., 1998. Effect of microalgal diets and commercial wheatgerm flours on the lipid profile of *Ruditapes desussatus* spat. *Comparative Biochemistry and Physiology* 119A, 369-377
- Figueras, A., 1989. Mussel Culture in Spain and France. *World Aquaculture*, 20(4), 8-17.

- Figueras, A., 2007. Biología y cultivo del mejillón *Mytilus galloprovincialis* en Galicia. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, Spain, p 282.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497–509.
- Gabbott, P.A., 1975. Storage cycle in marine bivalve mollusks: a hypothesis concerning de relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. *In: Proceedings 9<sup>th</sup> Europ. Mar. Biol. Symp.* (Barnes, H., ed). Aberdeen University Press: 191 – 211.
- Gallager, S.M., 1988. Visual observations of particle manipulation during feeding in larvae of a bivalve mollusk. *Bulletin of Marine Science* 43 (3), 344–365.
- Galley, T.H., Batista, F.M., Braithwaite, R., King, J., Beaumont, A.R., 2009. Optimisation of larval culture of the mussel *Mytilus edulis* (L.). *Aquaculture International* 18, 315-325.
- GIESE, A., 1959. Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. *An. Rev. physiol.* 21: 547-576.
- Griffiths C.L., and Griffiths R.J., 1987. Bivalvia. *In: animal energetics, Vol. 2. Bivalvia through Reptilia*, by Pandian, T.J. and Vernberg, F.J., eds. Academic Press, New York, USA: 1 – 88.
- Griffiths, R.J., 1977. Reproductive cycles in littoralpopulations of *Chromytilus meridionalis* (Kr.) and *Aulacomya ater* (Molina) with a quantitative assessment of gamete production in the former. *J. Exp. Biol. Ecol.*, 30: 53 - 71.
- Gros, O.; Frenkiel, L. and Mouëza, M., 1997. Embryonic, larval, and post-larval development in the symbiotic clam *Codakia orbicularis* (Bivalvia: Lucinidae). *Invertebrate Biology*, 116(2): 86-101.
- Gruffydd, L.D., Beaumont, A.R., 1970. Determination of the optimum concentration of eggs and spermatozoa for the production of normal larvae in *Pecten maximus* (Mollusca, Lamillibranchia). *Helgoländer wiss Meeresunters* 20, 486-497.
- Haws, M.C., DiMichele, L., Hand, S.C., 1993. Biochemical changes and mortality during metamorphosis of the Eastern oyster *Crassostrea virginica* and the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 2, 207–217.
- Helm, M.M., Bourne, N., 2004. Hatchery culture of bivalves. A practical manual. *In: Lovatelli A. (ed) FAO Fisheries Technical Paper 471. Food and Agriculture Organization of the United Nations Publishing, Rome, Italy, p 177.*
- Heude-Berthelin, C., 2000. Etude du métabolisme du glycogène chez l’huitre creuse, *Crassostrea gigas*. Impact sur la reproduction et les mortalités estivales. Thèse Doct. Univ. Caen, Caen: 156p.
- Houtteville, P., 1974. Contribution à l’étude cytologique et expérimentale du cycle du tissu de réserve du manteau de *Mytilus edulis*. Thèse Doc. 3eme cycle, Caen: 114p.
- Id Halla, M., Bouhaimi, A., Zekhnini, A., Narbonne, J.F., Mathieu, M., Moukrim, A., 1997. Etude du cycle de reproduction de deux moules *Perna perna* (Linné 1785) et *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) dans la baie d’Agadir (Sud du Maroc). *Haliotis*, 26 : 51 – 62.

- Iwata, K. S., 1950. Spawning of *Mytilus edulis*. II. Discharge by electrical stimulation. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries*, 15: 443-446.
- Iwata, K. S., 1951 a. Spawning of *Mytilus edulis*. IV. Discharge by KCl injection. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 16: 393-394.
- Iwata, K. S., 1951 b. Spawning of *Mytilus edulis*. VIII. Comparison of abilities of salts of alkali metals and alkali earth metals on induce spawning. *Nippon suisan Gakkaishi*. 17: 94-95.
- Izquierdo, M.S., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T., Kitajima, C., 1990. Optimum EFA levels in *Artemia* to meet the EFA requirements of red sea bream (*Pagrus major*). In: Takeda, M., Watanabe, T. (Eds.), *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture*. Tokyo Univ. Fisheries, Tokyo, pp. 221-232.
- Kimball, D.M., McElroy, A.E., 1993. Characterizing the annual reproductive cycle of *Mytilus edulis* from Boston harbor and Cape Cod Bay. A comparison by means of stereology and condition indices. *Mar. Environ. Res.*, 35: 189-196.
- Kinoshita, T., 1943. Induction of spawning of the scallop, *Pecten yessoensis* Say. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 11: 168-170.
- Knauer, J., Southgate, P.C., 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. *Reviews in Fisheries Science* 7, 241-280
- Landin, A., 1981. Biología y Ecología del mejillón. *Cuadernos Marisqueros. Publicaciones divulgativas* N° 4.
- Lasiak, T., 1986. The reproductive cycles of the intertidal bivalves *Crassostrea cucullata* (Born, 1978) and *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from Transkei Coast, Southern Africa. *Veliger*, 29: 226 - 230.
- Le Pennec. M., 1981. Les méthodes expérimentales induisant la ponte chez les mollusques bivalves marins. *Haliotis*, 11: 139-155.
- Lenoir, F., 1989. Mise au point de techniques de purification et de cultures cellulaires chez la moule. Application à l'étude des régulations du métabolisme du glycogène. Thèse Doct. Univ. Caen, Caen: 130p.
- Leonardos, N., Lucas, I.A.N., 2000a. The nutritional value of algae grown under different culture conditions for *Mytilus edulis* (L.) larvae. *Aquaculture* 182, 301-315.
- Leonardos, N., Lucas, I.A.N., 2000b. The use of larval fatty acids as an index of growth in *Mytilus edulis* L-larvae. *Aquaculture* 184, 155-166.
- Liu, W., Alabi, A.O., Pearce, C.M., 2008. Fertilization and embryonic development in the basket cockle, *Clinocardium nuttallii*. *Journal of Shellfish Research* 27(2), 393-397.
- Loosanoff, V.L., Davis, H.C., 1963. Rearing of bivalve molluscs. In: Russell F.S. (ed) *Advances in Marine Biology*, vol 1. Academic Press, London, pp 1-136.
- Lubet, P., 1994. Données récentes sur la biologie des mollusques. *Haliotis*, 23: 3-14.
- Lubet, P., 1959. Recherches sur le cycle sexual et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Mollusques Bivalves). *Rev. Trav. Inst. Pêches Mar.*, 23: 387 - 548.

- Lubet, P., 1986. The reproductive strategies of marine bivalve molluscs. *In: Advances in Invertebrates reproduction*, by Prochet, M., Andries, J.C., and Dhainaut, A., eds. Elsevier Sciences Publishers: 401 – 408.
- Lubet, P., Aloui, N., 1987. Limites létales thermiques et action de la température sur la gamétogenèse et l'activité neurosécrétoire chez la moule (*Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*), Mollusques bivalves. *Haliotis*, 16: 309 – 316.
- Lunetta, J.E., 1969. Reproductive physiology of the mussel *Mytilus perna*. Bol. Fac. Filos. Ciênc. Let. Univ. S. Paulo, Ser. Zool., 26: 33-111.
- Madrones-Ladja, J.A., 1997. Notes on the induced spawning, embryonic and larval development of the windowpane shell, *Placuna placenta* (Linnaeus, 1758), in the laboratory. *Aquaculture*, 157:137-146.
- Marshall, R., McKinley, S., Pearce, C.M., 2010. Effects of nutrition on larval growth and survival in bivalves. *Reviews in Aquaculture* 2, 33-55.
- Mathieu, M., 1987. Etude expérimentale des contrôles exercés par les gonglions nerveux sur la gamétogenèse et les processus métaboliques associés chez la moule *Mytilus edulis* (L.) (mollusque lamellibranche). Thèse Doct. D'Etat, Caen: 205p.
- Mathieu, M., Lubet, P., 1993. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves. A brief review. *Invertebr, Reprod. Dev.*, 23: 123-129.
- Moran, A.L., Manahan, D.T., 2004. Physiological recovery from prolonged 'starvation' in larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 306, 17–36.
- Morse, D.; Hooker, N.; y Morse, A., 1977. Hydrogen peroxide induces spawning in mollusks with activation of Prostaglandin Endoperoxide synthetase. *Science*, 196: 298-300.
- Mouëza, M.; Gros, O. and Frenkiel, L., 2006. Embryonic, larval and postlarval development of the shell differentiation in *Chione cancellata* (Bivalvia: Veneridae): an ultrastructural analysis. *Invertebrate Biology*, 125: 21-33.
- Nakal, A., 1980. Contribución a la ecología de la pepitona *Arca zebra* (Swainson 1883). Aspectos gametogénicos. *Tesis de Grado*, Licenciado en Biología. Univ. de Oriente. Cumaná.
- Núñez, J.; Barquín, M. and A. Brito. 1994. Cartografía de la distribución, biología y evaluación de los recursos marisqueros de moluscos litorales canarios: lapas, orejas de mar y mejillón. 1º fase: La Palma, Tenerife, Gran Canaria y Fuerteventura. Departamento de Biología Animal. Universidad de La Laguna. 323pp.
- Pérez-Camacho, A. y Román, G., 1987. La reproducción en los moluscos bivalvos. En: *Reproducción en acuicultura. J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta (eds.):* 133-184. CAICYT (Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica). Madrid.
- Peréz-Camacho, A., 1977. Experiencias en cultivos de larvas de tres especies de moluscos bivalvos: *Venerupis pullastra* (Montagu), *Venerupis decussata* (Linnaeus) y *Ostrea edulis* (Linnaeus). Boletín del Instituto Español de Oceanografía III (235), 227-234
- Petterson, A.K., Turchini, G.M., Jahangard, S., Ingram, B.A., Sherman, C.D.H., 2010. Effects of different dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty

- acid composition of blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae. *Aquaculture* 309, 115-124. doi10.1016/j.aquaculture.2010.09.024.
- Pipe, R.K., 1985. Seasonal cycles in and effects of starvation on egg development in *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 24: 121-128
- Pipe, R.K., 1987. Oogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis*: an ultrastructural study. *Mar. Biol.*, 95: 405-414.
- Prieto, A.S., 1980b. some ecological aspects of the bivalve mollusk *Anadara notabilis* (Roding 1798) in two areas from the Gulf of Cariaco. Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela*. Univ. de Oriente 19 (1/2): 119 – 124.
- Ragg, N.L.C., King, N., Watts, E., Morrish, J., 2010. Optimizing the delivery of the key dietary diatom *Chaetoceros calcitrans* to intensively cultured Greenshell™ mussel larvae, *Perna canaliculus*. *Aquaculture* 306, 270-280.
- Raven, C., 1966. Morphogenesis. The analysis of Molluscan development. *Pergamon Press. London*, 365 pp.
- Rico-Villa, B., Le Coz, J.R., Mingant, C., Robert, R., 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 256, 377–388.
- Rico-Villa, B., Pouvreau, S., Robert, R., 2009. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 287, 395-401.
- Robbins, I., Lenoir, F., Mathieu, M., 1990. A putative neuroendocrine factor that stimulates glycogen mobilization in isolated glycogen cells from the marine mussel *Mytilus edulis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 79: 123-129.
- Rodriguez-Moscoso, E., Arnaiz, R., 1998. Gametogenesis and energy storage in a population of the grooved carpet-shell clam, *Tapes decussatus* (Linné, 1787) in northwest Spain. *Aquaculture*, 162: 125-139.
- Rojas Mujica, V.A., 2003. Estudio histológico del ciclo gametogénico y estimación de fecundidad potencial de *Mytilus chilensis* (Hupe, 1854), en un banco natural del estuario del Rio Tornagaleones (Isla del Rey, Valdivia). *Memoria del Título Medico Veterinario*, Univ. Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile. 43p.
- Ruiz, M.; Tarifiño, E.; Llanos-Rivera, A.; Padget, C. y Campus, B., 2008. Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario y larval del mejillón, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk, 1819). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(1): 51-61.
- Seed, R., 1976. Ecology. *In: Marine mussels: their ecology and physiology*, by Bayne, B.L., ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK: 13 – 66.
- Shafee, M.S., 1989. Reproduction of *Perna picta* (Mollusca: Bivalvia) from the atlantic coast of Morocco. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 53: 235 – 245.

- Silberfeld, T., Gros, O., 2006. Embryonic development of the tropical bivalve *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Veneridae: subfamily Meretricinae): a SEM study. *Cahier de Biologie Marine* 47, 243-251.
- Spencer, B.E., 2002. Molluscan shellfish farming. Blackwell Publishing, Oxford.
- Sprung, M., Bayne, B.L., 1984. Some practical aspects of fertilising the eggs of the mussel *Mytilus edulis* (L.). *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* 41, 125-128.
- Thompson, P.A., Guo, M.X., Harrison, P.J., 1996. Nutritional value of diets that vary in fatty acid composition for larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 143, 379-391.
- Uki, N., y Kikuchy, S., 1974. On the effect of irradiated sea water with ultraviolet rays on inducing spawning of the scallop *Patinopecten yessoensis*. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, 34: 87-92.
- Utting, S.D., Helm, M.M., 1985. Improvement of seawater quality by physical and chemical pre-treatment in a bivalve hatchery. *Aquaculture* 44, 125-128. doi: 10.1016/0044-8486(85)90016-X.
- Velasco, L.A., Barros, J., Acosta, E., 2007. Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture* 266, 153-165.
- Villalba, A., 1995. Gametogenic cycle of cultured mussel, *Mytilus galloprovincialis*, in the bays of Galicia (N.W. Spain) *Aquaculture* 130: 269-277.
- Villalobos, C.R., 1980. Variation in population structure in the genus *Tetracalita* (Crustacea: Cirripedia) between temperate and tropical populations. IV. The age structure of *T. stalactifera* and concluding remarks. *Revista de Biología Tropical* 28: 353-359.
- Widdows, J., 1991. Physiological ecology of mussel larvae. *Aquaculture* 94, 147-163.
- Wilson J. H. and Seed R., 1974. Reproduction in *Mytilus galloprovincialis* Lmk. (Mollusca : Bivalvia) in Carlinh Ford Lough, Northern Ireland. *Irish fisheries*.

## Línea 4: Difusión de la información

Como ya se adelantó en el informe del año 2008, además del presente sobre la viabilidad del cultivo de mejillón en Canarias, existen otros dos, por tanto, son tres los proyectos que desde distintas aproximaciones, trabajan en la actualidad en el cultivo del mejillón en Canarias (Fig. 28), existiendo una estrecha colaboración entre los mismos, con el fin de procurar una sinergia tal, que haga posible un mayor rendimiento de los recursos y un mejor aprovechamiento de los resultados. En este sentido, algunos de los resultados obtenidos en todos ellos, se han presentado de forma conjunta en diferentes foros.

- **“Estudio de la Viabilidad Técnica de la Captación de Semilla y Cultivo del Mejillón *Perna perna* en Fuerteventura”**, promovido por el Cabildo de Fuerteventura en colaboración con la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, coordinado por el Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA: Instituto Canario de Ciencias Marinas-Universidad de Las Palmas de Gran Canaria)

- **“Determinación de la viabilidad del cultivo de mejillón (*Perna perna*) en la isla de Fuerteventura”**, desarrollado por la empresa Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. (GMR) auspiciada por el Gobierno de Canarias, a través de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación; Viceconsejería de Pesca; y la Unión Europea. La coordinación científica la desarrolla el Instituto Español de Oceanografía y presenta, además, la colaboración de las Cofradías de Pescadores de Corralejo y Gran Tarajal, (Fuerteventura).



Figura 28. Proyectos sobre el cultivo de mejillón en Canarias y entidades participantes

## 4.1. Presentaciones a congresos

### XII Congreso Nacional de Acuicultura - Madrid, Noviembre 2009


- “Caracterización del ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* (Linné, 1758) en las Islas Canarias”.

L. Aarab, A. Bilbao, M.P. Viera, G. Courtois de Viçose, A. Bilbao, Y. Pérez, R. Falcón, S. Merbah. N. Pavón, H. Fernández-Palacios y L. Molina

#### Resumen

El mejillón *Perna perna*, es una especie con una distribución típicamente anfiatlántica ya que se localiza en la costa Oeste de Africa y en el Mar Caribe. En las Islas Canarias, dicho molusco se distribuye en determinados puntos de Lanzarote y Fuerteventura, donde es habitual su consumo. La constatación de que el “mejillón majorero”, como recurso marisquero de la costa de la isla de Fuerteventura, se encuentra actualmente en una preocupante situación de conservación, ha motivado la necesidad de establecer un amplio período de veda para su extracción, actualmente vigente (*Orden de 16 de julio de 2004; BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004*) y así mismo, ha despertado el interés por el desarrollo de su cultivo.

El objetivo general de este estudio es describir el ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* en las costas canarias, determinando el período de puesta en la Naturaleza. Estos resultados permitirán aumentar el conocimiento de la biología reproductiva de la especie de cara al control de la reproducción y cría en cautividad de ejemplares de este molusco.



**Grupo de Investigación en Acuicultura**

**Caracterización del ciclo reproductivo del mejillón *Perna perna* (Linné, 1758) en las Islas Canarias**

L. Aarab, A. Bilbao, M.P. Viera, G. Courtois de Viçose, A. Bilbao, Y. Pérez, R. Falcón, S. Merbah, N. Pavón, H. Fernández-Palacios y L. Molina\*

\*Unidad de Acuicultura de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. Instituto Tecnológico de Alimentos de Canarias (ITA) del Departamento de Pesca, Acuicultura y Medio Ambiente de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. Instituto Tecnológico de Alimentos de Canarias (ITA) del Departamento de Pesca, Acuicultura y Medio Ambiente de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. Instituto Tecnológico de Alimentos de Canarias (ITA) del Departamento de Pesca, Acuicultura y Medio Ambiente de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.

---

**Abstract**

In the Canary archipelago *Perna perna* is potential candidate for aquaculture. Hence, the biology knowledge of natural populations is essential to develop the correct breeding and production techniques. In the present study twenty monthly samples of *Perna perna* were collected between January 2009 and September 2009 at Fuerteventura Island. Histological techniques were used to investigate the reproductive biology. The reproductive cycle is characterized as seasonal spawning throughout the year, although the maximum reproductive activity of population is between September and February.

**Justificación**

El mejillón *Perna perna* es un molusco con gran potencial marisquero en el Archipiélago Canario, principalmente en la isla de Fuerteventura donde se encuentran las poblaciones más importantes. La preocupante situación de la población de esta molusco, motivamos la necesidad por la creación (veda, muestro), desde el año 2004, la necesidad de establecer un período de veda para su extracción (Orden de 16 de julio de 2004; BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004) así mismo, ha despertado el interés por el desarrollo de su cultivo.

**Material y Métodos**

Estudio histológico de 20 muestras mensuales (i.e. >35 moluscos capturados entre enero 2009 y septiembre 2009) en la Playa de Los Montes, Fuerteventura (Fig. 1). El estudio de cada individuo se adaptó por la inclusión de dos métodos: estudio macroscópico para la presencia de oocitos y fragmentación de los gónados a la observación del mismo que se fijó en formalina al 10% durante el mes de 24 horas, deshidratación en serie de alcohol de hidrógeno, inclusión en parafina y corte de secciones. Tinción con hematoxilina de Harris y eosina (Fig. 2). El ciclo reproductivo se estableció mediante los siguientes índices gonosomáticos:

- Porcentaje de fecundación de los oocitos de moluscos (Lamb, 1930; de Hally, 1997).
- Diámetro de oocitos. Se midieron el diámetro de 50 oocitos por individuo con la ayuda del programa informático Image Pro-Plus.

Los resultados obtenidos se relacionaron con los datos de temperatura y producción primaria de la zona estudiada, con datos del Departamento de Oceanografía de IICA.

**Resultados y Discusión**

El estudio de machos respecto a hembras fue 1:1 similar al encontrado para la misma especie por Hally y col. (1997). Los resultados obtenidos (Fig. 3, 4, 5) sugieren que la población de *P. perna* muestra una actividad reproductiva a lo largo de todo el ciclo anual, observándose individuos en estado maduro, maduros y parcialmente desovados los meses, presentando una máxima actividad entre los meses de septiembre y marzo y una disminución de la actividad general desde abril hasta agosto, caracterizada por la presencia de individuos en estado madurez gonadal y espermiogonad. Al comparar estos resultados con datos bibliográficos en otras zonas geográficas (Cayo, 1981; Lamb, 1930; Brenner y col., 2006), se observa que a medida que la latitud decrece el período de puesta en *P. perna* aumenta a lo largo del año, reflejando claramente su relación con las condiciones medioambientales.

El período de puesta en *P. perna* está estrechamente relacionado con la temperatura y la disponibilidad de alimento (de Hally y col., 1997). Se observó la máxima actividad reproductiva durante el período de mayor concentración de clorofila entre septiembre y marzo de acuerdo con lo observado por otros autores para la misma especie (Giffiths y Griffiths, 1987). Asimismo, la maduración gonadal de los machos de moluscos coincide con el aumento de la temperatura, como observado Lamb (1930). En el estudio realizado, resulta que la mayoría de los gónados de estos entre septiembre y febrero, coincidiendo con la determinación de la temperatura registrada en el agua de mar (de 18 a 24°C).




Fig. 1. Localización de las zonas de muestreo mensual en las Islas Canarias.




Fig. 2. Muestra histológica de la población en las Islas Canarias (Fuerteventura) (Fig. 1), del Instituto Tecnológico de Alimentos de Canarias (ITA) del Departamento de Pesca, Acuicultura y Medio Ambiente de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.




Fig. 3. Estado de moluscos (A) y (B) machos; (C) y (D) hembras; (E) y (F) machos; (G) y (H) hembras. Se observan oocitos maduros y espermiogonad. (A) y (B) espermiogonad. (C) y (D) espermiogonad. (E) y (F) espermiogonad. (G) y (H) espermiogonad.

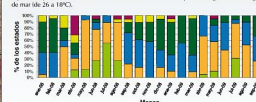


Fig. 5. Porcentaje de fecundación de los oocitos de moluscos en el período de estudio. Los cambios de moluscos en estado maduro se reflejan en el eje de las abscisas (Fig. 1 y Fig. 3).

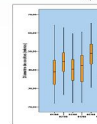


Fig. 4. Diagrama de barras que del diámetro de oocitos (relacionado a la longitud del período de estudio).

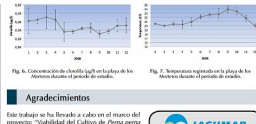


Fig. 6. Concentración de clorofila (µg/l) en la columna de las Islas Canarias durante el período de estudio.





Fig. 7. Temperatura registrada en la playa de las Islas Canarias durante el período de estudio.

**Agradecimientos**

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto: "Sostenibilidad del Cultivo de *Perna perna* en Canarias", subproyecto del Proyecto JACUMAR "Cultivo de moluscos: seguridad y sostenibilidad".





- **“Estudio de la Viabilidad Técnica de la Captación de Semilla y Cultivo del Mejillón *Perna perna* en Fuerteventura. Fase inicial: Selección, diseño y montaje de sistemas en zonas expuestas (*SmartFarm*)”.**

M.P. Viera, A. Bilbao, G. Courtois de Viçose, Y. Pérez, L. Aarab, A. Bilbao Villena, R. Falcón, N. Pavón, H. Fernández-Palacios, L. Molina y M.S. Izquierdo

#### Resumen

El mejillón *Perna perna* es un molusco con gran tradición marisquera en el Archipiélago Canario, principalmente en la isla de Fuerteventura donde, en las costas expuestas de barlovento, se encuentran las poblaciones más significativas. La preocupante situación del “mejillón majorero”, fuertemente diezmada por la extracción furtiva, motivó, desde el año 2004, la necesidad de establecer un período de veda para su extracción, (*Orden de 16 de julio de 2004. BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004*).

El presente proyecto técnico, surge como iniciativa del Cabildo Insular de Fuerteventura, que además de intentar conseguir la recuperación de la especie, pretende también proporcionar medios de subsistencia adicionales a las Cofradías de Pescadores de la isla, mediante la posible explotación del cultivo de mejillón, en caso de que las experiencias fuesen satisfactorias.

El desarrollo científico del proyecto se llevará a cabo por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, a través del Grupo de Investigación en Acuicultura (Instituto Canario de Ciencias Marinas - Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria), mientras que el asesoramiento técnico es proporcionado por la empresa Gestenaval, S.L., representante en España del sistema noruego de producción de mejillones *SmartFarm*.

Considerando el grado de exposición y características del litoral majorero, se optó por la técnica *SmartFarm* como sistema de cultivo.

De forma general, los objetivos que persigue el presente proyecto, recién iniciado, son:

1. Evaluar la fijación de las larvas así como el posterior crecimiento de la especie objetivo sobre las redes de los *SmartLines* en las dos costas (barlovento y sotavento) de la isla de Fuerteventura
2. Comprobar el comportamiento mecánico de los *SmartLines* en aguas expuestas, así como la resistencia de la estructura y de sus fondeos.



de cultivo. En cuanto al diseño específico, se puede hablar, en términos generales, de tres tipos de *longline* en función de la proximidad de la línea de cultivo principal a la superficie del mar: superficial o flotante, sub-superficial y sumergido (Bompais, 1991). La elección del diseño específico será función de las condiciones del lugar (Buck, 2007).

• “Impacto ambiental del cultivo de mejillón en *longline* (Fuerteventura, Islas Canarias)”.

Bilbao, Y. Pérez, M.P. Viera, R. Falcón, L. Aarab, G. Courtois de Viçose, A. Bilbao-Villena, H. Fernández-Palacios, L. Molina, y N. Pavón

Resumen

En marzo de 2009, comienza por primera vez en Canarias, concretamente en la Isla de Fuerteventura, un proyecto piloto para el cultivo del mejillón, *Perna perna* (Linnaeus, 1758) en estructuras tipo *longline* en mar abierto. Dichas instalaciones de cultivo están constituidas por una sola línea de dimensiones experimentales (sub-superficiales, 110 metros de longitud, 40 cuerdas de cultivo de 2 metros, densidad de cultivo inicial de 1 Kgm<sup>-1</sup> y profundidad media de 30 metros) localizadas en dos emplazamientos, alejados 60 Km entre sí, en la costa de sotavento e Isla de Lobos, a una distancia de la costa de unos 1,5 Km. La duración del estudio se prevé de un máximo de dos 2 años. Con vistas a un futuro desarrollo del cultivo de mejillón en Canarias, la finalidad de la presente comunicación es la de, a través de un caso práctico, contribuir al conocimiento, tanto desde un punto de vista empresarial como de las administraciones competentes, de los posibles impactos ambientales asociados a dicha actividad. Los objetivos propuestos son: Identificar, analizar, valorar y jerarquizar los impactos ambientales potenciales de un cultivo de mejillón en *longline*. Proponer un Plan de Vigilancia Ambiental (PVA) para este cultivo.

**Impacto ambiental del cultivo de mejillón en *longline* (Fuerteventura, Islas Canarias)**

A. BILBAO, M.P. VIERA, Y. PÉREZ, G. COURTOIS DE VIÇOSE, R. FALCÓN, F. CABRERA, L. AARAB, A. BILBAO-VILLENA, H. FERNÁNDEZ-PALACIOS, L. MOLINA Y N. PAVÓN

**ABSTRACT**

**JUSTIFICACIÓN**

**MATERIAL Y MÉTODOS**

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

IDENTIFICACIÓN DE LOS IMPACTOS		ANÁLISIS DE LOS IMPACTOS (EVALUACIÓN)				VALORACIÓN DE IMPACTOS
Actividad	Fase	Impacto	Gravidad	Frecuencia	Reversibilidad	Gravidad
Instalación	Instalación	Alteración del paisaje	Alto	Alta	Irreversible	Alto
		Alteración de la calidad del agua	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del suelo	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del aire	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
Cultivo	Cultivo	Alteración del paisaje	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del agua	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del suelo	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del aire	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
Retirada	Retirada	Alteración del paisaje	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del agua	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del suelo	Bajo	Baja	Reversible	Bajo
		Alteración de la calidad del aire	Bajo	Baja	Reversible	Bajo

**BIBLIOGRAFÍA**

**AGRADECIMIENTOS**

**Descripción del cultivo de mejillón *Perna perna* en *longline* (Fuerteventura, Islas Canarias)**

A. BILBAO, M.P. VIERA, Y. PÉREZ, G. COURTOIS DE VIÇOSE, R. FALCÓN, F. CABRERA, L. AARAB, A. BILBAO-VILLENA, H. FERNÁNDEZ-PALACIOS, L. MOLINA Y N. PAVÓN

**ABSTRACT**

**JUSTIFICACIÓN**

**MATERIAL Y MÉTODOS**

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**BIBLIOGRAFÍA**

**AGRADECIMIENTOS**

**Foro dos recursos mariños e da acuicultura das Rías Galegas - La Toja,**  
octubre 2009

- **“Cultivo de mejillón (*Perna perna*) en Canarias: enfoque y perspectivas”.**

M.P. Viera, A. Bilbao, Y. Pérez, L. Aarab, G. Courtois de Viçose, A. Bilbao-Villena, S. Merbah, R. Falcón, N. Pavón, H. Fernández-Palacios, L. Molina y M.S. Izquierdo

**Resumen**

El mejillón *Perna perna* es un molusco con gran tradición marisquera en el Archipiélago Canario, principalmente en la isla de Fuerteventura donde se encuentran las poblaciones más significativas.

A partir de los estudios desarrollados por Bacallado y colaboradores (1985), el Gobierno de Canarias regula por primera vez la captura de esta especie en todo el Archipiélago, mediante el (*Decreto 134/1986, de 12 de septiembre, BOC nº 117, 29-9-86*).

Sin embargo, la constatación de la preocupante situación de la población de “mejillón mayorero”, fuertemente diezmada por la extracción furtiva, motivó, en el año 2004, la necesidad de establecer un amplio período de veda para su extracción, (*Orden de 16 de julio de 2004, (BOC núm. 141, jueves 22 de julio de 2004)*, que aún sigue vigente).

En este contexto, han surgido diversas iniciativas que, además de intentar conseguir la recuperación de la especie, persiguen adicionalmente implicar a las Cofradías de Pescadores de la isla en una posible explotación de cultivo, si éste resultara viable.

Son tres, los proyectos que desde distintas perspectivas, estudian la viabilidad del cultivo del mejillón en las Islas Canarias, todos ellos coordinados por el Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA: Instituto Canario de Ciencias Marinas-Universidad de Las Palmas de Gran Canaria).

## 4.2. Presentación del Diploma de Estudios Avanzados (DEA)

Doctorando Lahoussine Aarab, dentro del programa de doctorado Acuicultura: Producción Controlada de Animales Acuáticos, en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria – Las Palmas, enero de 2011.

**Desarrollo embrionario y efecto de las dietas de microalgas sobre el crecimiento de larvas del mejillón *Perna perna* (L., 1758).**

**Embryonic development and influence of different dietary microalgae on growth of brown mussel *Perna perna* (L., 1758) larvae**

L. Aarab<sup>1</sup>, M.P. Viera<sup>1</sup>, A. Pérez-Camacho<sup>2</sup>, G. Courtois de Vicose<sup>1</sup>, H. Fernández-Palacios<sup>1</sup>, L. Molina<sup>1</sup>, M.S. Izquierdo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Acuicultura, UPLGC & ICCM, P. O. Box 56, 35200 Telde, Canary Islands, Spain

<sup>2</sup> Centro Oceanográfico de La Coruña, IEO, Muelle de Animas, s/n, 18001 La Coruña, Spain

### Abstract

Embryonic development of brown mussel *Perna perna* followed the common sequence exhibited by other bivalves. Trochophore stage was attained 18 hours post-fertilization at  $21\pm 1^\circ\text{C}$ , followed by D-larvae ( $88.22 \times 66.54 \mu\text{m}$ ), on after 40 to 44 hours post-fertilization, with a large ciliated velum and concentric growth lines in the shell. The umbo-stage was reached with 11-days-old ( $123.48 \times 99.20 \mu\text{m}$ ). Then the pediveliger larvae ( $267.73 \times 236.55 \mu\text{m}$ ) by 26 days post-fertilization with pedal organ and velum, which will transform to the gill filaments in the last phase of larval development. During embryonic development, the low eggs density (range 20-100 eggs  $\text{cm}^{-2}$ ) produce high proportions of normal D-larvae (66.20 to 78.73%). The larval development shows two growth phases: 1<sup>st</sup> – the mixotrophic stage, with the general growth rates of  $3.92 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$  in length and  $3.69 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$  in height. 2<sup>nd</sup> – the exotrophic stage with high growth rates, varying between the different diets, compared to the previous phase ( $8.77$  to  $10.15 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$  in length and  $6.75$  to  $7.94 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$  in height). In this previous stage, the compositions of diets have significantly effects on larval growth with higher rates in larvae fed with the mixed microalgae (*Isochrysis galbana* + *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana* + *Phaeodactylum tricornutum* and *Isochrysis galbana* + *Skeletonema costatum*) in comparison with the monospecific diet (*Isochrysis galbana*). Fatty acid analysis revealed the larval growth was strongly influenced by the proportions of dietary docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA). These results indicate that the DHA and EPA are the keys factors in determining larval performance, considerably than the total amount of other fatty acids.

**Keywords:** Mussel; *Perna perna*; Hatchery; Embryonic and larval development; growth rate; Microalgae; DHA-22:6n-3; EPA-20:5n-3

# ANEXO IV

**JACUMAR**  
**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

**INFORME FINAL CATALUÑA**

***Título: Cultivo de mitílicos: expansión y sostenibilidad. Subproyecto: Cultivo de mejillón en mar abierto mediante artefactos flotantes***

## INFORME FINAL EXTENSO

### TABLA DE CONTENIDOS

<b>1.- DATOS ADMINISTRATIVOS</b> .....	3
<b>2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL</b> .....	7
2.1. OBJETIVOS INICIALES .....	7
2.1.1. OBJETIVO GENERAL .....	7
2.1.2. OBJETIVOS PARCIALES: .....	7
2.2. OBJETIVOS REALIZADOS.....	9
2.3. METODOLOGÍA.....	10
2.3.1. Línea 0. Parámetros ambientales. ....	11
2.3.2. Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto .....	11
2.3.2.1. Tarea 1.1: Estudio del crecimiento y mortalidad.....	12
2.3.2.2. Tarea 1.2: Estudio de la reproducción y reclutamiento .....	13
2.3.2.3. Tarea 1.3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón .....	14
Determinación del crecimiento en longitud, peso y contenido orgánico .....	15
Estimación del índice de condición y peso seco estándar .....	15
Determinación de la composición bioquímica .....	15
2.3.2.4. Línea 1. Tarea 4: Valoración del estado inmunológico del mejillón.....	16
2.3.2.5. Tarea 1.5: Trasplantes de mejillón.....	16
2.3.3. Línea 2. Estudio de la composición toxínica del mejillón.....	16
2.3.3.1. Tarea 2.1: Desarrollo de metodologías cromatográficas, LC-FD, LC-MS-MS. Perfiles toxínicos.....	16
2.3.3.2. Tarea 2.2: Purificación de extractos HPLC, preparativa. ....	18
2.3.3.3. Tarea 2.3: Evaluación de la citotoxicidad de toxinas y extractos.....	18
2.3.3.4. Tarea 2.4: Correlación y concordancia entre los resultados obtenidos mediante citotoxicidad, bioensayo ratón y LC-MS-MS como indicadores de toxicidad. ....	20
2.3.4. Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana.....	21
2.3.4.1. Tarea 3.1: Detección y caracterización de bacterias potencialmente diarreicas.....	21
2.3.4.2. Tarea 3.2: Aportar representantes de cada biotipo de <i>Vibrio</i> aislado, a la CECT y la CAIM.....	22
2.3.5. Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones. ....	22
2.3.5.1. Tarea 4.1: Estudio histopatológico de la presencia de parásitos en los mejillones. ....	22
2.3.5.2. Tarea 4.2: Hibridación in situ. ....	22
2.4. RESULTADOS .....	23
2.4.1. Línea 0. Parámetros ambientales .....	23
2.4.2. Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto .....	35
2.4.2.1. Tarea 1.1: Estudio del crecimiento y mortalidad.....	35
2.4.2.2. Tarea 1.2: Estudio de la reproducción y reclutamiento .....	46
2.4.2.3. Tarea 1.3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón .....	50
2.4.2.4. Tarea 1.4: Valoración del estado inmunológico del mejillón.....	57
2.4.3. Línea 2: Estudio de la composición toxínica del mejillón.....	58
2.4.3.1. Tarea 2.1: Desarrollo de metodologías cromatográficas, LC-FD, LC-MS-MS. Perfiles toxínicos.....	58
2.4.3.2. Tarea 2.2: Purificación de extractos HPLC, preparativa. ....	63
2.4.4.3. Tarea 2.3: Evaluación de la citotoxicidad de toxinas y extractos.....	63
2.4.4. Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana.....	68
2.4.4.1. Tarea 3.1: Detección y caracterización de bacterias potencialmente diarreicas.....	68
2.4.4.2. Tarea 3.2: Aportar representantes de cada biotipo de <i>Vibrio</i> colectado a la CECT y la CAIM.....	70
2.4.5. Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones.....	70
2.4.5.1. Tarea 4.1: Estudio histopatológico de la presencia de parásitos en los mejillones. ....	70
2.5. CONCLUSIONES .....	73

2.6. VALORACIÓN .....	74
2.7. DIFUSIÓN .....	78
2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO.....	81
2.9. BIBLIOGRAFÍA .....	81

## **1.- DATOS ADMINISTRATIVOS**

**TITULO:** Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad. Subproyecto: Cultivo de mejillón en mar abierto mediante artefactos flotantes

### **FECHAS DE REALIZACIÓN**

Inicio: 2007

Finalización: 2010

### **PRESUPUESTO TOTAL EN EUROS**

973.227,98 Euros

### **DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO**

Nombre y Apellidos: Dolors Furones Nozal

Organismo/ Centro: IRTA

Departamento: Centro de Sant Carles de La Ràpita

Teléfono: 977745427

Fax: 977744138

Correo electrónico: dolors.furones@irta.cat

Dirección postal completa: IRTA, Carretera del Poblenou, km 5,5; 43540 Sant Carles de la Ràpita

### **PARTICIPANTES por la Comunidad Autónoma de Cataluña**

#### **CENTROS DE INVESTIGACIÓN**

Tipo de centro: Centro de Investigación de la Generalitat de Catalunya

Nombre: IRTA

CIF: Q5855049

Nombre Representante Legal: Agustí Fonts



## DATOS DE LOS INVESTIGADORES

Apellidos: Furones Nozal  
Nombre: Dolors  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Cultivos Experimentales  
Equipo: Patología  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico: dolors.furones@irta.cat  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Ramon Herrero  
Nombre: Montserrat  
Organismo: IRTA, IEO  
Centro: Sant Carles de la Ràpita (IRTA), Centro Oceanográfico de Baleares (IEO)  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino (IRTA)  
Equipo: Moluscos  
Teléfono: 93 230 95 00  
Fax.: 93 230 95 55  
Correo electrónico: mramon@icm.csic.es  
Dirección Postal: Institut de Ciències del Mar (CSIC), Passeig Marítim de la Barceloneta, 37-49. 08003 BARCELONA.

Apellidos: Fernández Tejedor  
Nombre: Margarita  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino  
Equipo: Fitoplancton tóxico, oceanografía y parámetros ambientales en la acuicultura  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico: margarita.fernandez@irta.cat  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Diogène Fadini  
Nombre: Jorge  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino  
Equipo: Toxicología y Seguridad Alimentaria  
Teléfono: 977745427  
Fax.:977744138

Correo electrónico: [jorge.diogene@irta.cat](mailto:jorge.diogene@irta.cat)  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: de la Iglesia  
Nombre: Pablo  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino  
Equipo: Toxinas marinas  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico: [Pablo.delalglesia@irta.cat](mailto:Pablo.delalglesia@irta.cat)  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Giménez  
Nombre: Gemma  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino  
Equipo: Toxinas marinas  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico:  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Campàs  
Nombre: Mònica  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino  
Equipo: Biosensores  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico:  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Eixarch  
Nombre: Helena  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Seguimiento del Medio Marino  
Equipo: Bioensayos celulares  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138

Correo electrónico: Helena.Eixarch@irta.cat  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Carrasco  
Nombre: Noelia  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Cultivos Experimentales  
Equipo: Patología de moluscos  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico: noelia.carrasco@irta.cat  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Roque  
Nombre: Ana  
Organismo: IRTA  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Cultivos Experimentales  
Equipo: Patología  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico: ana.roque@irta.cat  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

Apellidos: Delgado  
Nombre: Marina  
Organismo: IRTA (en la actualidad trabaja en el IEO-Cádiz)  
Centro: Sant Carles de la Ràpita  
Departamento: Unidad de Cultivos Experimentales  
Equipo: Moluscos  
Teléfono: 977745427  
Fax.: 977744138  
Correo electrónico:  
Dirección Postal: Carretera del Poblenou km 5,5 43540 Sant Carles de la Ràpita

## 2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

### 2.1. OBJETIVOS INICIALES

#### 2.1.1. OBJETIVO GENERAL

Analizar las posibilidades del cultivo de mejillón en mar abierto mediante el empleo de bateas flotantes, estudiando tanto aspectos de producción (crecimiento, mortalidad, composición bioquímica, etc.) como otros aspectos igualmente interesantes a tener en cuenta para el cultivo (biotoxinas, microbiología, parasitología).

#### 2.1.2. OBJETIVOS PARCIALES:

##### 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto

- Estudiar el crecimiento, mortalidad, desarrollo gonadal y reclutamiento del mejillón cultivado. Se realizará simultáneamente un seguimiento ambiental de la temperatura, salinidad, concentración de seston y clorofila.
- Realizar trasplantes de mejillón cultivado en la bahía a las bateas flotantes en mar abierto durante el periodo estival para determinar la aclimatación a las condiciones locales.
- Comparación de los resultados obtenidos en mar abierto con información previa del cultivo que se desarrolla dentro de la bahía de Alfacs.
- Realizar un estudio de la evolución de la composición bioquímica general y de la composición en clases lipídicas del mejillón
- Valorar su estado inmunológico

##### 2: Estudio de la composición tóxica del mejillón

- Realizar un seguimiento de los niveles de toxinas en mejillón en la zona experimental de estudio, una batea flotante ubicada en el Golfo de la Ampolla.
- Desarrollar metodologías analíticas para la determinación y cuantificación de toxinas en coordinación con la propuesta de Galicia dentro de este proyecto. Por ello, nos proponemos estudiar comparativamente la eficacia técnica y económica de algunos de los nuevos sistemas de cuantificación de las toxinas en la detección de niveles admisibles y en el procesado de los grandes volúmenes de trabajo de los sistemas de control basados en estas técnicas. Adicionalmente se pretende estudiar la incidencia en cierres de comercialización y por tanto económica del nivel admisible de

concentración de toxinas o de toxicidad fijado para cada técnica o grupo de técnicas.

### 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana

- Cuantificar y caracterizar las bacterias pertenecientes a la especie *Escherichia coli* y al género *Vibrio* que estén presentes en los mejillones
- Aportar representantes de cada biotipo de *Vibrio* colectado a la CECT y la CAIM

### 4: Estudio de la situación de parasitación

- Determinar el status parasitológico de los mejillones producidos en bateas flotantes en mar abierto y realizar un seguimiento de las enfermedades no parasitarias tipo Neoplasia.
- Estudiar la dinámica y el ciclo de vida de *Marteilia* spp. en este ecosistema

Estos objetivos se estructuraron en la propuesta en 4 líneas de investigación:

#### Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto

Tarea 1: Estudio del crecimiento, mortalidad e índices de condición. Se compararán los resultados obtenidos con los datos de los que se dispone de la bahía de Alfacs obtenidos en otros proyectos que se están llevando a cabo.

Tarea 1.2: Estudio de la reproducción y reclutamiento.

Tarea 1.3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón.

Tarea 1.4. Valoración del estado inmunológico del mejillón.

Tarea 1.5: Transplantes de mejillón

#### Línea 2: Estudio de la composición tóxica del mejillón.

Tarea 2.1: Desarrollo de metodologías cromatográficas, LC-FD, LC-MS-MS. Perfiles tóxicos.

Tarea 2.2: Purificación de extractos HPLC, preparativa.

Tarea 2.3: Evaluación de la citotoxicidad de toxinas y extractos.

Tarea 2.4: Correlación y concordancia entre los resultados obtenidos mediante citotoxicidad, bioensayo ratón y LC-MS-MS como indicadores de toxicidad.

Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana.

Tarea 3.1: Detección y caracterización de bacterias potencialmente diarreicas.

Tarea 3.2: Aportar representantes de cada biotipo de *Vibrio* colectado a la CECT y la CAIM.

Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones.

Tarea 4.1: Histopatología.

Tarea 4.2: Hibridación in situ.

## 2.2. OBJETIVOS REALIZADOS

Se han completado todos los objetivos iniciales excepto 2, estos son:

- Realizar trasplantes de mejillón cultivado en la bahía a las bateas flotantes en mar abierto durante el periodo estival para determinar la aclimatación a las condiciones locales.
- Realizar un estudio de la evolución de la composición bioquímica general y de la composición en clases lipídicas del mejillón.

Ambos objetivos son parte del objetivo específico 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto.

Estos 2 objetivos corresponden con las tareas:

Tarea 1.3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón

Tarea 1.5: Trasplantes de mejillón

Ambas tareas pertenecen a la Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto.

En la propuesta del proyecto, el estudio de los parámetros ambientales estaba incluido en la Línea 2: Estudio de la composición tóxica del mejillón, sin embargo el seguimiento ambiental también tiene implicaciones en otros objetivos y así se ha reflejado en los informes anteriores. En este informe se ha separado el seguimiento de los parámetros ambientales como línea independiente, para no alterar la numeración seguida en informes anteriores en relación a las líneas y

tareas, esta línea la hemos numerado como línea 0. Este informe final se estructura entonces en 5 líneas:

Línea 0. Parámetros ambientales que afectan al cultivo.

Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto

Línea 2: Estudio de la composición tóxica del mejillón

Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana.

Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones.

### 2.3. METODOLOGÍA

#### Resumen

La propuesta planteaba realizar un cultivo experimental de mejillón a pequeña escala modificando las jaulas de cultivo de peces del IRTA, situadas frente a Les Cases d'Alcanar o bien en una batea flotante que iba a ser ubicada en el Golfo de la Ampolla. En caso de que no fuera posible se planteó como alternativa el adquirir o diseñar una estructura flotante específica para el cultivo de mejillón en aguas abiertas, que se probaría en el curso de este proyecto. Finalmente se optó por la segunda opción mediante la compra de una batea modular construida por Metaldeza que fue instalada en el polígono experimental del IRTA en Les Cases d'Alcanar.

Durante el año 2007 se emprendieron las tareas de instalación de la estructura flotante, que culminaron a mediados de junio. Una semana después se colgaron las cuerdas de semilla y se procedió a su seguimiento, según la previsión inicial. Se obtuvieron datos positivos sobre el crecimiento y mortalidad de la semilla de mejillón cultivada fuera de las bahías del delta del Ebro durante el verano. En otoño del 2007 se colgaron nuevas cuerdas con semilla de mejillón para iniciar el seguimiento de un ciclo de cultivo completo.

En el año 2008 se realizó el seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto, considerando las siguientes tareas:

Estudio del crecimiento, mortalidad e índices de condición.

Estudio de la reproducción y reclutamiento.

Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón.

Parámetros ambientales

Asimismo se llevó a cabo el estudio de la composición tóxica del mejillón, incluyendo:

Estudio del contenido de toxinas amnésicas (ASP)

Estudio del contenido de toxinas lipofílicas presentes en mejillón y filtros de agua de mar.

Se detectaron y caracterizaron las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie, aportando representantes de cada biotipo de *Vibrio* colectado a la CECT y la CAIM.

Se realizó un estudio histopatológico de la presencia de parásitos.

Las tareas 1.4: Valoración del estado inmunológico del mejillón y la tarea y 1.5: Trasplantes de mejillón previstas para el 2008 se aplazaron al 2009.

Durante el año 2009 se continuó con el seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto (Línea 1), considerando las siguientes tareas:

- Estudio del crecimiento y mortalidad.
- Estudio de la reproducción y reclutamiento.
- Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón.
- Valoración del estado inmunológico del mejillón.

Parámetros ambientales.

Asimismo se llevó a cabo el estudio de la composición tóxica del mejillón (Línea 2), incluyendo:

- Desarrollo de metodologías cromatográficas, LC-FD, LC-MS-MS. Perfiles tóxicos.
- Evaluación de la citotoxicidad de toxinas y extractos.

También se llevó a cabo la Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana.

Asimismo se realizó un estudio histopatológico de la presencia de parásitos (Línea 4)

La tarea 5: Trasplantes de mejillón, que no pudo completarse a causa de la desaparición de las cuerdas con las que se realizaba el estudio.

En el caso de la tarea 3, relativa a la composición lipídica del mejillón, las muestras almacenadas en el IRTA se descongelaron debido a que durante el periodo de almacenamiento (noviembre de 2008-hasta agosto de 2009) la cámara sufrió diversas averías que ocasionaron bruscas subidas de temperatura, hasta llegar a alcanzar, en ocasiones, más de 2°C. Los resultados de los análisis realizados posteriormente confirman las sospechas de que la composición bioquímica de las muestras se ha visto afectada por esta descongelación. Estos hechos invalidan las conclusiones que se puedan derivar de los resultados obtenidos.

### 2.3.1. Línea 0. Parámetros ambientales.

Durante los años 2007, 2008 y 2009 se realizaron muestreos mensuales en la batea para medir los siguientes parámetros: perfiles de temperatura, salinidad, concentración de oxígeno, clorofila *in vivo* y turbidimetría; seston, clorofila extraída en acetona y fitoplancton a las profundidades de 0,5, 3 y 6 metros. Además se registró también la temperatura en continuo. Para ello se emplearon una sonda YSI 556, una sonda SeaBird 19 plus, HOBOS-Onset, botella Niskin. Para las medidas de seston y clorofila extraída se filtró 1 litro de agua a través de filtros GFF en triplicado. Para la identificación y recuento de fitoplancton se empleó la técnica de microscopía invertida sedimentando 50 ml de muestra.

### 2.3.2. Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto



Las tareas de campo previstas en este proyecto se han desarrollado en la estructura flotante adquirida en el 2007 para el cultivo de mejillón en aguas abiertas. Dicha estructura está instalada frente a Les Cases d'Alcanar (Tarragona), ubicada dentro de la concesión del IRTA, a unos 12 m. de profundidad y a 2 millas náuticas de la línea de costa.

#### 2.3.2.1. Tarea 1.1: Estudio del crecimiento y mortalidad

En junio del 2007 se instalaron las primeras cuerdas de semilla en la estructura flotante, estas cuerdas tenían una longitud de 6 metros. Se hizo el seguimiento mensual del crecimiento en estas cuerdas desde junio hasta octubre a 3 profundidades. Se procedió a extraer aproximadamente 100 individuos de mejillón por réplica y profundidad (0, 3, 6 m), analizándose un total de 3 réplicas por profundidad. La muestra fue congelada al llegar al laboratorio debido a la imposibilidad de trabajar todo el material en fresco, cuantificándose previamente los ejemplares muertos. A posteriori se descongeló para determinar la longitud, el peso de la concha y el peso fresco y seco de la carne de cada individuo.

Para seguir el ciclo de cultivo 2007-2008 se emplearon cuerdas de una longitud de 3 metros, puesto que durante el ciclo anterior se puso de manifiesto la imposibilidad de manejar cuerdas más largas dado la carencia de barco con pluma adecuada a tal efecto. Sin embargo y para aprovechar todo el rango de profundidad disponible bajo la batea, la mitad de las cuerdas de 3 metros se colgaron desde la superficie (rango 0-3m de profundidad) y la otra mitad se colgó de forma que los mejillones se situaron en el rango 3-6 m de profundidad. Para evitar posibles diferencias debidas a la posición, se dispusieron las cuerdas de manera que de una misma argolla de sujeción colgaba una cuerda de de 0-3 y otra de 3-6 m, simulando así una única cuerda de 0-6 m. Las cuerdas fueron suspendidas de la batea en octubre 2007. Con periodicidad mensual y hasta agosto 2008 se procedió a extraer aproximadamente 100 individuos por réplica y por profundidad (0, 3, 6 m), analizándose un total de 3 réplicas por profundidad. La muestra fue congelada al llegar al laboratorio debido a la imposibilidad de trabajar todo el material en fresco, cuantificándose previamente los ejemplares muertos. A posteriori se descongeló para determinar la longitud, el peso de la concha y el peso fresco y seco de la carne de cada individuo.

En mayo 2008 se recogió una muestra de mejillón cultivado siguiendo los métodos tradicionales dentro de la bahía de Alfacs, junto con una muestra del mejillón cultivado en la instalación offshore. Aunque la semilla de mejillón no fue la misma en ambos casos, el objetivo planteado era comparar el rendimiento en talla y peso del mejillón cultivado en dos lugares distintos y que ya había alcanzado la talla comercial.

Hacia mediados de octubre 2008 se inició un nuevo ciclo de cultivo (2008-2009), suspendiéndose 68 cuerdas preparadas con la semilla obtenida en la batea offshore. Para seguir el ciclo de cultivo 2008-2009 se continuó aplicando la misma metodología que el año anterior: se emplearon cuerdas de una longitud de 3 metros, de forma que la mitad de las cuerdas de 3 metros se colgaron desde la

superficie (rango 0-3m de profundidad) y la otra mitad se colgó en el rango 3-6 m de profundidad. Para evitar posibles diferencias debidas a la posición, se dispusieron las cuerdas de manera que de una misma argolla de sujeción colgaba una cuerda de de 0-3 y otra de 3-6 m, simulando así una única cuerda de 0-6 m. La semilla utilizada se obtuvo de la propia batea flotante, aprovechando la captación natural que tuvo lugar en la instalación. Las 68 cuerdas fueron suspendidas de la batea a mediados de octubre 2008, sin embargo en el muestreo efectuado una semana más tarde se apreció la desaparición de gran parte (aproximadamente un 60-70%) de la semilla de mejillón. Esta pérdida se atribuyó a la predación por peces, pues coincidía con la rotura de la red protectora que rodeaba a la batea. Ello obligó a hacer una segunda siembra con semilla de la batea a mediados de noviembre, para garantizar un número suficiente de cuerdas que permitiera llevar a cabo las experiencias planteadas para el 2009, sin embargo y debido a la escasez de semilla solo pudieron colgarse 21 cuerdas a mediados de noviembre. Con periodicidad mensual (a excepción de abril y junio por falta de suficientes cuerdas) y hasta julio 2009 se procedió a extraer aproximadamente 100 individuos por réplica y por profundidad (0, 3, 6 m), analizándose un total de 3 réplicas por fondo. La muestra fue congelada al llegar al laboratorio debido a la imposibilidad de trabajar todo el material en fresco, cuantificándose previamente los ejemplares muertos. A posteriori se descongeló para determinar la longitud, el peso de la concha y el peso fresco y seco de la carne de cada individuo.

Asimismo en mayo y julio 2009 se recogió una muestra de mejillón cultivado siguiendo los métodos tradicionales dentro de la bahía de Alfacs, junto con una muestra del mejillón cultivado en la instalación offshore. La procedencia de la semilla era la misma en ambos casos, a fin de poder comparar el rendimiento en talla y peso del mejillón cultivado en dos lugares distintos y que ya había alcanzado la talla comercial.

#### 2.3.2.2. Tarea 1.2: Estudio de la reproducción y reclutamiento

##### Reproducción del mejillón

Los mejillones analizados fueron recolectados en la batea de Les Cases d'Alcanar. Se analizaron 30 individuos con periodicidad mensual en el periodo comprendido entre julio 2007-octubre 2007, octubre 2007-septiembre 2008 Y noviembre 2008 y agosto 2009. Se procedió a la disección de una pieza de tejido comprendiendo manto y glándula digestiva y a su posterior fijación en formol al 10%. Las muestras se conservaron en alcohol 70º, fueron deshidratadas e incluidas en parafina de 60 grados de punto de fusión. Se realizaron cortes histológicos de 5 micras de grosor teñidos con hematoxilina-eosina.

El estado de maduración se determinó microscópicamente siguiendo la escala propuesta por Lubet (1959): estado 0, reposo; estado I, multiplicación de las gonias; estado II, progresión de la gametogénesis; estado IIIA, madurez; estado IIIB, vaciado de los folículos; estado IIIC, restauración gonadal y estado IIID, reabsorción gonadal.

### Captación de semilla:

Para el seguimiento de la captación de semilla se colocaron 5 trozos de cuerda colectora de 30 cm de longitud (Figura 1) que se fueron sustituyendo periódicamente. Después de los malos resultados obtenidos durante el ciclo 2007-2008 con el seguimiento de la presencia de semilla en pequeños trozos de cuerda colectora, se decidió modificar el sistema para evaluar la captación, en base al seguimiento de un cuadrado de 50 x 50 cm de la propia batea y también utilizando trozos de la red empleada por los productores para realizar el embuche. De esta forma una zona de la batea que fue limpiada de incrustaciones el 17 de diciembre, a fin de cuantificar el asentamiento de la semilla con periodicidad quincenal.



Figura 1. Trozo de cuerda utilizada para la captación de semilla en la batea de Les Cases d'Alcanar y detalle de la misma mostrando los filamentos de que se compone, así como la semilla de mejillón fijada.

#### 2.3.2.3. Tarea 1.3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón

Se determinó estacionalmente la composición bioquímica general y la composición en clases de lípidos de *Mytilus galloprovincialis* cultivado en batea flotante en mar abierto a lo largo del año 2008, desde el encordado de la semilla hasta llegar a talla comercial. Los muestreos se realizaron los días: 28 noviembre 2007 (otoño), 28 febrero 2008 (invierno), 28 mayo 2008 (primavera) y 27 agosto 2008 (verano). En cada muestreo se tomaron al azar 30 individuos.

Se separaron los tejidos blandos del individuos y se congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Se homogeneizaron con vibrador ultrasónico sonificador. La determinación de carbohidratos se realizó según la metodología descrita por Bradford (1976). La determinación de proteínas se realizó según la metodología descrita por Lowry (1951). La extracción de lípidos se realizó según la metodología descrita por Folch (1957).

Además se analizaron las siguientes clases lipídicas, mediante cromatografía de capa fina (Olsen and Henderson, 1989): Triglicéridos, Fosfolípidos, Ácidos grasos libres, Ésteres de esterol y ceras y colesterol.

En octubre del 2008 se dispusieron cuerdas en la batea flotante en mar abierto (Les Cases) y en una batea situada en el interior de la bahía dels Alfacs, realizando el encordado con el mismo tipo de semilla. En estas cuerdas, se ha determinado estacionalmente la composición bioquímica general y la composición en clases de lípidos de *M. galloprovincialis* cultivado en batea flotante en mar abierto (Les Cases) desde el encordado de la semilla hasta llegar a talla comercial a lo largo del año 2009. Asimismo, se planificaron muestreos para estudiar la dinámica bioquímica en los periodos diferenciales de crecimiento detectados entre la batea en mar abierto e interna. Con tales fines, se programaron muestreos los meses de noviembre de 2008, enero, marzo, mayo y agosto de 2009 en la batea exterior (Les Cases) y los meses de enero, marzo y mayo de 2009 en la batea interior (Alfacs).

#### Determinación del crecimiento en longitud, peso y contenido orgánico

En cada uno de estos muestreos realizados a lo largo del periodo de cultivo se determinó la longitud, peso y contenido en materia orgánica de los individuos. La longitud (L), que se corresponde con el eje antero-posterior de las valvas, se midió con calibre de 0,1 mm de precisión. El peso vivo (PV) se determinó por pesada tras cinco minutos de secado en papel absorbente. Del mismo modo se procedió tras la disección para obtener el peso fresco de la carne (Pf) y de las valvas (Pfv). Los pesos se tomaron en mg. El % en humedad y el contenido en cenizas se determinaron tras secado en estufa (100°C, 24h.) y posterior calcinación en horno Mufla (450°C, 24h.) de partes alícuotas. Obteniéndose de este modo, el peso seco (PSc) y contenido orgánico (MO) de los tejidos blandos.

#### Estimación del índice de condición y peso seco estándar

Se calculó el índice de condición según la expresión de Walne (1976), con el peso seco de las valvas (Psv) y peso seco de la carne (Ps):

$$IC = Ps/Psv$$

Con el fin de estimar el crecimiento gonadal se calculó la variación del peso seco (Ps) referida a una individuo standar de 50.58 mm en Les Cases y 53.46 mm en Alfacs.

#### Determinación de la composición bioquímica

Se separaron los tejidos blandos del individuos y se congelaron a -20°C. Se homogeneizaron con vibrador ultrasonico sonificador. La determinación de carbohidratos se realizó según la metodología descrita por Bradford (1976). La determinación de proteínas se realizó según la metodología descrita por Lowry (1951). La extracción de lípidos se realizó según la metodología descrita por Folch (1957).

Además se analizaron las siguientes clases lípidicas, mediante cromatografía de capa fina (Olsen and Henderson, 1989): Triglicéridos, Fosfolípidos, Ácidos grasos libres, Ésteres de esterol y ceras y colesterol.

#### 2.3.2.4. Línea 1. Tarea 4: Valoración del estado inmunológico del mejillón

Se recogieron mejillones de la bahía y se aclimataron durante 3 días a las condiciones de laboratorio del ICM-CSIC a una temperatura de 21°C, muy similar a la del agua de mar de la bahía en ese momento, distribuyéndolos en dos acuarios (control y tratamiento). Los mejillones se alimentaron de *Tetraselmis* spp. una vez al día, en dosis elevadas (no calculadas por no ser relevantes en este experimento). El día 15 de junio se tomaron las muestras iniciales (D0) y a partir de ahí se aumentó, en uno de los acuarios, un grado por día hasta llegar a 27°C. Los días 22 (D1) y 29 de junio (D2) se volvió a muestrear en ambos acuarios y a partir de allí se disminuyó la Tª aproximadamente 1°C/día, de forma que una semana más tarde (3 de julio, D3) se recogieron las últimas muestras con el propósito de analizar si los posibles cambios inmunológicos provocados por el aumento de temperatura volvían a su estado inicial cuando la temperatura retornaba a sus valores normales. Los parámetros analizados fueron: producción de radicales de oxígeno (ROS) y respuesta fagocítica.

#### 2.3.2.5. Tarea 1.5: Trasplantes de mejillón

Con el objetivo de conocer si los mejillones que habían sufrido estrés térmico en la bahía de Alfacs se recuperaban al ser trasladados a una zona con temperaturas menos elevadas, a mediados de julio (17/7/2009) se procedió a dividir una cuerda de mejillón cultivado en la bahía, en siete grupos. Tres de ellos se suspendieron dentro de la bahía, tres en la batea de Les Cases d'Alcanar y la última se empleó para hacer el recuento de mortalidad inicial. El 23/7/09 se recoge una de las muestras de la bahía pero lamentablemente al ir a recoger una muestra de la batea offshore se vio que habían cortado la cuerda, perdiéndose las muestras e imposibilitando la comparación.

#### 2.3.3. Línea 2. Estudio de la composición tóxica del mejillón

Se analizaron las toxinas amnésicas, lipofílicas y paralizantes por métodos químicos, usando ensayos celulares.

##### 2.3.3.1. Tarea 2.1: Desarrollo de metodologías cromatográficas, LC-FD, LC-MS-MS. Perfiles tóxicos.

El **ácido domoico** (DA) y su epímero epidomoico (EA) son las principales toxinas causantes del síndrome de intoxicación amnésica por consumo de bivalvos (ASP). Su análisis requiere de una extracción selectiva del DA y EA presentes en las muestras de carne de moluscos previa a la determinación por cromatografía líquida de alta eficacia con detección por ultravioleta (HPLC-UV). Se trituraron unos 100 g de carne de mejillón, y se pesó unos 4 g de este homogenizado. Se añadieron 16 mL de metanol al 50%, y se agitó al vórtex durante 1 minuto. Se

centrifugó a 4000 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente, y se filtró el sobrenadante a 0.45 µm antes de inyectarlo al cromatógrafo. En la Tabla I se muestran las condiciones cromatográficas utilizadas.

Límite de detección del método (LOD) = 0.6 mg DA por Kg de carne; límite de cuantificación (LOQ) = 1.9 mg DA por Kg de carne.

Tabla I: Condiciones cromatográficas. ACN = acetonitrilo; H<sub>2</sub>O = agua MilliQ; HFor = ácido fórmico.

<b>Precolumna</b>	Phenomenex C <sub>18</sub>
<b>Columna</b>	Fase reversa C <sub>18</sub> XTerra 4.6x150mm, 5µm (Waters)
<b>Flujo</b>	0.8 mL·min <sup>-1</sup>
<b>Fase Móvil (isocrático)</b>	ACN:H <sub>2</sub> O (1:9) amb 0.1% HFor
<b>Temperatura columna</b>	40 (°C)
<b>Volumen de inyección</b>	20 (µL)
<b>Detección UV</b>	λ = 242 nm

El grupo de **toxinas lipofílicas** comprende especies químicas de muy diversa naturaleza, tanto en relación a su estructura química como a la toxicidad que producen. No obstante, comparten su carácter lipofílico lo que posibilita su determinación a partir del mismo extracto mediante la aplicación de un método multitoxina LC-MS/MS.

Las especies químicas determinadas son las siguientes:

DSP libre: ácido okadaico (OA) y dinofisistoxinas 1 y 2 (DTX-1 and -2). Para el grupo OA: LOD = 30 µg kg<sup>-1</sup>; LOQ = 100 µg kg<sup>-1</sup>).

DSP total: OA y DTX-1 y -2, determinadas tras la hidrólisis del extracto de la muestra. Esta etapa permite la determinación de total de toxinas DSP incluyendo aquellas toxinas presentes en la muestra en forma de ésteres.

Otras toxinas lipofílicas:

Gymnodimina (GYM)

Espirolidos (SPXs): A, B, C, D, E, F, desmethyl spiroolid-C and desmethyl spiroolid-D.

Pectenotoxinas (PTXs): -1, -2, -3, -4, -6, -7; and pectenotoxin-2seco acid.

Azaspirácidos (AZAs): 1-10.

Yessotoxinas (YTXs): yessotoxina, hidroxiyessotoxina, homoyessotoxina, hidroxihomoyessotoxina.

Dependiendo del tipo de muestra (mejillón o filtros) se ha seguido un protocolo de preparación de muestra diferente:

a) Mejillón: El procedimiento seguido para la preparación de la muestra a partir de tejido de mariscos se describe a continuación:

1.- Homogenización de la carne.

2.- Extracción metanólica (2 g con 9 mL MeOH), por duplicado.

3. Hidrólisis de la muestra para evaluar el contenido total de toxinas en la muestra incluyendo derivados ésterificados.

4. Inyección en LC-MS/MS de extractos crudos e hidrolizados, en modo positivo y negativo.

b) Filtros: Se obtuvo una muestra de agua de la zona CAT1-01 para cada mes durante el periodo de estudio (enero-diciembre 2008). Se filtró 1,5 L con filtros GFF y se extrajo con 1 mL de metanol 100% por duplicado. Los extractos resultantes se combinaron y se llevaron a sequedad en corriente de N<sub>2</sub> a 40°C, redisolviéndose en un volumen final de 0,5 mL de MeOH para análisis con el método multitoxina LC-MS/MS.

Los análisis de **toxinas tipo PSP** se han pospuesto hasta tener la técnica mínimamente a punto, y el aparato disponible. Se presentan resultados preliminares debido a estos condicionantes, sin embargo se seguirá trabajando con las muestras en las próximas semanas para poder llegar a conclusiones más firmes y útiles para el proyecto.

Se tomaron muestras mensuales de mejillón de la batea; de enero de 2008 a enero de 2009 ambos inclusive, por lo que se dispone de 13 muestras en total. Los mejillones se abrieron, se vació su carne sobre un colador para eliminar el exceso de agua, y se homogeneizó un mínimo de 100g de vianda, del que se alicuotó 5g en un tubo para su congelación y conservación a -20°C hasta su análisis (instrucción interna IRTA IT – 2001 – L – 09; Processament de mostres, rev.1).

Las muestras se analizaron según la instrucción interna IRTA (Anàlisi de toxines paralitzants en mostres de múscul per derivatització pre-columna; en revisió) basada en el método de Lawrence (AOAC Official Method 2005.06), que es el método químico aceptado a nivel legislativo. Se realiza una doble extracción con ácido acético, una primera purificación y derivatización con periodato para detectar la presencia de toxinas paralizantes, y en función de los resultados de este primer análisis, se realiza una segunda purificación y derivatización con periodato y/o una segunda derivatización con peróxido del primer purificado. Las toxinas se detectan gracias a las derivatizaciones, que les confieren fluorescencia. Se trata de un método complejo, no sólo por su protocolo sino también por el número y naturaleza de los compuestos implicados.

#### 2.3.3.2. Tarea 2.2: Purificación de extractos HPLC, preparativa.

Se han utilizado extractos acetónicos de mejillón (Yasumoto et al., 1978) para poder obtener extractos comparables a los empleados regularmente en los bioensayos de ratón para toxinas lipofílicas. Los extractos fueron fraccionados en 17 fracciones usando cartuchos de tipo reversed-phase C18 SPE usando acetonitrilo:agua como gradiente de elución.

#### 2.3.3.3. Tarea 2.3: Evaluación de la citotoxicidad de toxinas y extractos.

Mantenimiento de las células N2a:

Las células de neuroblastoma N2a se mantienen en cultivo con RPMI suplementado con 10% de FBS, piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 2 mM, estreptomicina 0.05 mg/mL y 5 U/mL de penicilina, a una temperatura de 37° C y a 5.0% de CO<sub>2</sub>.

Preparación de las placas de células N2a para los ensayos de citotoxicidad:

Para los ensayos de viabilidad celular se utilizan placas de 96 pocillos. Se dispensan 200 µl de medio de cultivo con 35.000 células por pocillo. Las exposiciones a los extractos de mejillón se realizan tras 24 horas de crecimiento de las células en las placas.

Exposición de los cultivos celulares de N2a a extractos de mejillón:

Los extractos se evaporan previamente con flujo de nitrógeno y con calor y se resuspenden posteriormente en medio de cultivo al 5% de FBS. Se dosifican en los pocillos correspondientes (de dos a tres réplicas por extracto). La exposición de los cultivos celulares a los extractos es de 24 horas.

Lectura de la viabilidad celular. Ensayo del MTT:

El ensayo MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide], descrito por primera vez por Mosmann en 1983, se basa en la habilidad de una enzima deshidrogenasa situada en las mitocondrias de células vivas a transformar los anillos del tetrazolium que dan la coloración amarilla al MTT y forman unos cristales azul oscuro de formazán que son impermeables a las membranas celulares. El número de células vivas es directamente proporcional a la concentración de formazán que se produzca en un tiempo determinado. La liberación del colorante por DMSO del interior celular se valora por la lectura de la absorbancia a 570 nm.

Detección de saxitoxina (STX) mediante ensayos de citotoxicidad con células N2a:

La STX es capaz de modular los canales de sodio presentes en la membrana celular de las N2a (inhibe el flujo de iones). Alteraciones en la actividad de dichos canales producen variaciones en la supervivencia celular, y por ello la medida de la viabilidad es el punto final utilizado en este ensayo para detectar la toxina. Una adición directa de la toxina, de todas formas, no provoca respuesta celular; para poder ver los efectos, debemos añadir previamente otros moduladores de dichos canales de sodio, como son la ouabaina y la veratridina. La adición de estos moduladores provoca efectos tóxicos (mortalidad celular) que son contrarrestados por la STX (incremento de la viabilidad celular); sólo tras añadir ouabaina/veratridina se tornan observables los efectos de la STX. Este fenómeno también aporta especificidad al ensayo, ya que pone de manifiesto solo aquellas toxinas que actúan a través de los canales de sodio. El ensayo de citotoxicidad se realiza en presencia de ouabaina/veratridina (0.3/0.03 mM), partiendo de un 20% de viabilidad en ausencia de toxina. Se espera un incremento de la viabilidad en



presencia de STX, tal y como se observa en la curva de calibración realizada con un estándar (Figura 2). Como se ve también, en ausencia de ouabaina/veratridina, la viabilidad se mantiene constante incluso en presencia de elevadas concentraciones de STX. Cualquier mortalidad observada en ausencia de ouabaina/veratridina puede considerarse causada por efectos inespecíficos.

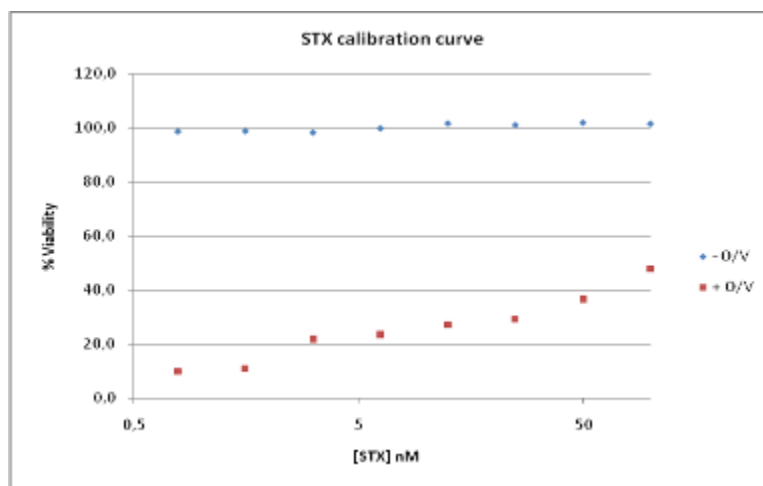


Figura 2 : Curva de calibración de la STX obtenida con un ensayo de citotoxicidad con células N2a

Las muestras también se han utilizado para el desarrollo de ensayos funcionales y estudio de los efectos de la matriz.

Ensayo con proteína fosfatasa 2A (PP2A) para la detección de ácido okadaico:

Se añaden los siguientes reactivos en el orden citado:

- 50  $\mu$ L de muestra a analizar, en este caso extracto metanólico de mejillón con o sin contenido de ácido okadaico, a diferentes concentraciones
- 100  $\mu$ L de enzima PP2A a una concentración de 1,5 mU/mL
- 50 de p-nitrofenilfosfato 25 mM, sustrato de la enzima PP2A

La reacción se incuba durante 1 hora a T<sup>a</sup> ambiente en agitación suave y protegido de la luz.

El producto resultado de la defosforilación del p-nitrofenilfosfato muestra un pico de absorción a 405 nm, de manera que el grado de actividad de la PP2A es proporcional a la absorbancia observada a esta longitud de onda.

El ensayo con PP2A es capaz de detectar la presencia de ácido okadaico en extractos de mejillón mostrando relación dosis-respuesta. La detección se basa en la inhibición de la actividad PP2A por el ácido okadaico, de manera que a mayor inhibición observada, mayor es la concentración de okadaico presente en la muestra. Mediante comparación con una gráfica patrón, se pueden obtener datos cuantitativos.

2.3.3.4. Tarea 2.4: Correlación y concordancia entre los resultados obtenidos mediante citotoxicidad, bioensayo ratón y LC-MS-MS como indicadores de toxicidad.

Se ha realizado la comparación de los resultados de los análisis de las muestras mediante diferentes metodologías.

### 2.3.4. Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana

#### 2.3.4.1. Tarea 3.1: Detección y caracterización de bacterias potencialmente diarreicas

Especie contemplada: Mejillón (*Mytilus galloprovincialis*).

Punto de muestreo: Batea Cases d'Alcanar.

Numero de organismos: 30 organismos al azar más un mínimo de 50 g de carne.

Periodicidad: Un muestreo en invierno y otro en verano durante dos años.

#### Análisis bacteriológico de los bivalvos:

Los 30 organismos después de recolectados, se limpiaron con un cepillo. Una vez limpios, se lavaron con agua de mar estéril, se abrieron y se maceraron en solución salina estéril. Una vez obtenido el macerado, se sembraron en agua de peptona alcalina para llevar a cabo un enriquecimiento de 6h y de aquí se inocularon placas de chromagar vibrio que se incubaron a 37°C. Este medio es selectivo para vibrios a demás que cada especie de interés presenta colonias de un color diferente. Las colonias con los colores de interés (azul y lila) se purificaron en TSA (agar de triptona soya) con 2% de cloruro de sodio y se llevó a cabo una extracción del ADN total utilizando el kit de promega (wizard genomic DNA purification kit) y siguiendo las instrucciones del fabricante. A demás del macerado inicial se sembraron 100 ul en agar marino (MA) para conteo de heterofos totales, y 100 ul en agar TCBS para conteo de vibrios totales.

Para los potenciales *Vibrio parahaemolyticus* se llevará a cabo el siguiente protocolo: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Vibrio parahaemolyticus*: Los cebadores del PCR a usados son los propuestos por Bej et al. (1999). El volumen final de cada reacción es de 12.5 ul, utilizando la mezcla goTaq green, 0.13 ul de los primers específicos y 1 ul de ADN de muestra. Los ciclos de la reacción: desnaturalización inicial a 94 °C, 3 min., seguido de 30 ciclos de amplificación, cada ciclo consistiendo en una denaturación de 1 min, anillado de los cebadores a 58 °C 1 min, extensión de los cebadores a 72°C 1 min. Al final de los ciclos de amplificación las muestras se mantendrán a 72 °C durante 5 min. Los productos de la amplificación por PCR se separarán mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% en buffer TAE 1X y se observan en un transiluminador de luz UV. Para su documentación y análisis, se utiliza un fotodocumentador (Geneflash).

Para los potenciales *Vibrio vulnificus* se llevó a cabo el siguiente protocolo: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Vibrio vulnificus*: Los cebadores utilizados se encuentran en la tabla abajo. Este es un protocolo multiplex recomendado por el Dr. J Oliver. El volumen final de cada reacción es de 12.5 ul, utilizando la mezcla goTaq green, 0.13 ul de los primers específicos y 1 ul de ADN de muestra. Los parámetros de la PCR son los siguientes: desnaturalización inicial 3 min a 94°C, seguido de 30 ciclos de amplificación, cada ciclo consistiendo

en una desnaturalización 94°C por 45 sec, anillado de cebadores a 55°C por 45 sec, extensión a 72°C por 45 sec y extensión al final de los ciclos de 2 min a 72°C. Los productos de la amplificación por PCR se separan mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% en buffer TAE 1X y se observan en un transiluminador de luz UV. Para su documentación y análisis, se utiliza un fotodocumentador (Geneflash).

#### Cebadores

<i>vcgE</i> F	5' CTCAGAAAGGCTCAATTGAC 3'
<i>vcgE</i> R	5' GATTAACGCTGTAAGGCCG 3'
<i>vcgC</i> F	5' AGCTGCCGATAGCGATCT 3'
<i>vcgC</i> R	5' TGAGCTAACGCGAGTAGTGAG 3'
<i>vvhA</i> F	5' AGCGGTGATTTCAACG 3'
<i>vvhA</i> R	5' GGCCGTCTTTGTTCACT 3'

Los 50 g de carne de muestra se homogenizaron en agua de peptona y se determinó el número de *E. coli* presentes siguiendo el método propuesto por Donovan et al. (1988).

2.3.4.2. Tarea 3.2: Aportar representantes de cada biotipo de *Vibrio* aislado, a la CECT y la CAIM.

Envío de los aislados a la colección española de cultivos tipo de la Universidad de Valencia en Paterna (Valencia) y a la "Collection of Aquatic Important Microorganisms" gestionada por Bruno Gómez-Gil en Mazatlán, Sinaloa, Mexico.

2.3.5. Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones.

2.3.5.1. Tarea 4.1: Estudio histopatológico de la presencia de parásitos en los mejillones.

Secciones de treinta individuos, donde estaban representados los principales tejidos, fueron analizadas mensualmente entre Julio de 2007 y Julio de 2009. No se recolectó muestra para estudio entre Enero y Marzo de 2008 debido a las bajas prevalencias de parásitos que se suelen anotar entre estos meses del año; en cambio en 2008/2009 se realizó un muestreo anual incluyendo también los meses más fríos. Las secciones de mejillón fueron fijadas en formaldehído al 10% para su posterior procesado histológico. Después de la deshidratación e inclusión en parafina, fueron realizados cortes de 5 µm que posteriormente se tiñeron con hematoxilina-eosina para su observación bajo microscopio óptico. Muestras bimensuales comprendidas entre este periodo fueron estudiadas histopatológicamente durante este segundo año de proyecto.

2.3.5.2. Tarea 4.2: Hibridación *in situ*.

La hibridación *in situ* se planteó para poder detectar posibles fases tempranas de la infección que escaparan a la observación histológica, no fue necesario aplicar

esta técnica ya que se pudo obtener la información necesaria a partir de las observaciones histológicas.

## 2.4. RESULTADOS

### 2.4.1. Línea 0. Parámetros ambientales

Durante el período de octubre 2007 hasta agosto 2008 el valor mínimo de temperatura registrado en el vivero de Alfacs fue de 9,44 °C y el valor máximo fue de 30,75 °C ( Figura 3). En la batea de Les Cases el valor mínimo fue de 9,83°C y el máximo de 29,79°C durante el mismo período. A finales del mes de julio las temperaturas del agua de mar empezaron a superar el nivel de alerta. Las temperaturas registradas en la batea de Les Cases en superficie superaron los 28°C desde el 27 de julio hasta el 8 de agosto del 2008; en Alfacs las temperaturas superiores a los 28°C empezaron 2 días antes en superficie (el 25 de julio) y duraron 5 días más. Puntualmente el 13 de agosto las temperaturas también superaron los 28°C tanto en la batea de Les Cases como en el vivero de Alfacs. A la profundidad de 3m (Figura 4) las temperaturas en la batea superaron los 28°C desde el 30 de julio hasta el 7 de agosto. En Alfacs a la misma profundidad las temperaturas superaron los 28°C 4 días antes, el 26 de julio y siguieron durante 5 días más, hasta el 12 de agosto.

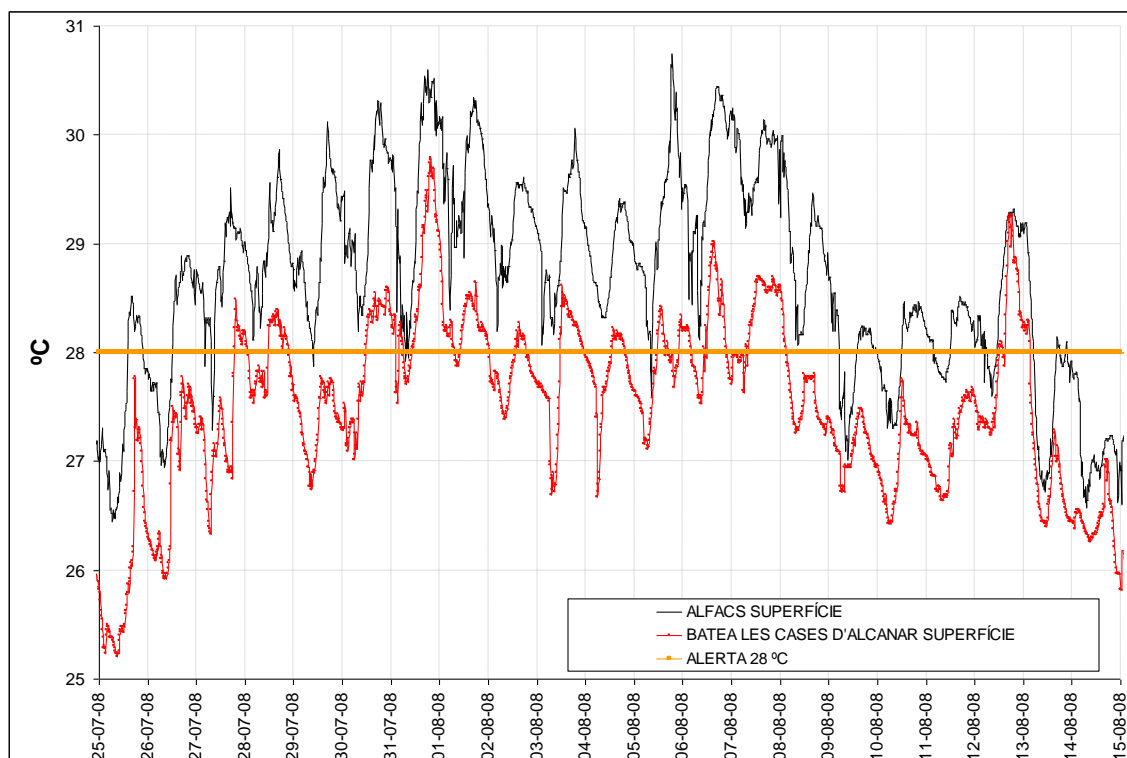


Figura 3. Evolución de la temperatura de finales de julio a mediados de agosto a nivel de superficie en la batea de Les Cases y en la bahía de Alfacs.

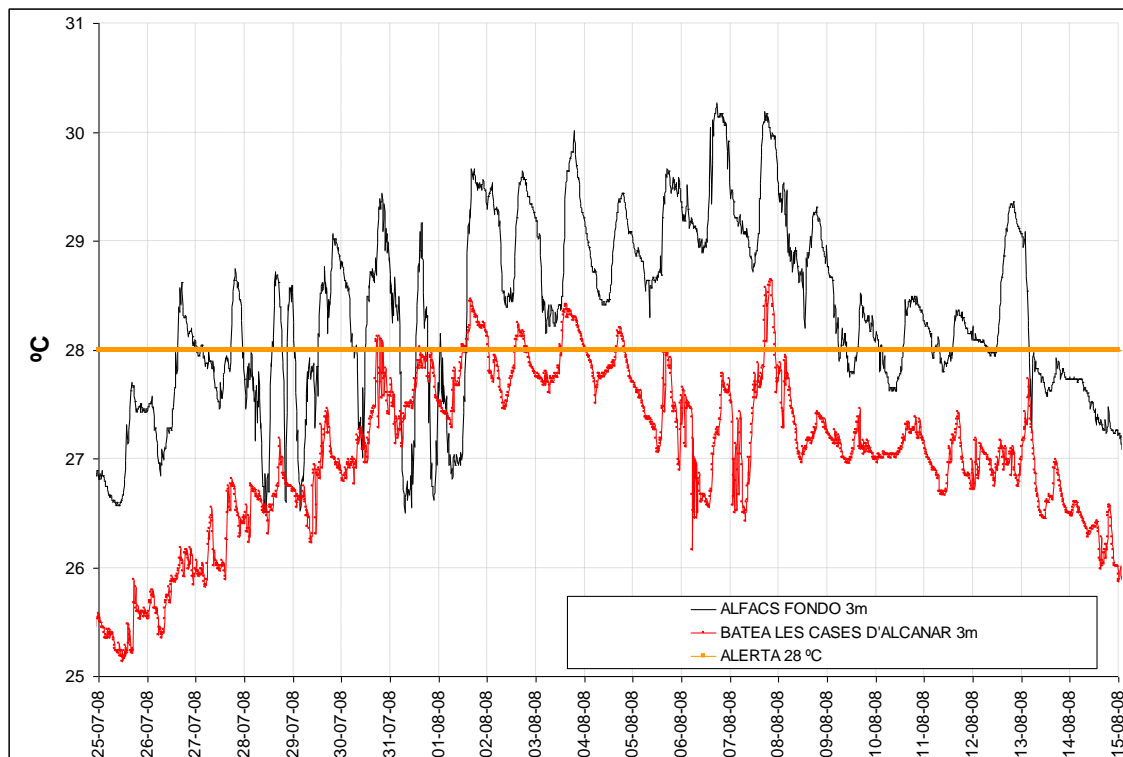


Figura 4. Evolución de la temperatura de finales de julio a mediados de agosto a 3 m de profundidad en la batea de Les Cases y en la bahía de Alfacs.

En los muestreos mensuales el rango de temperaturas y salinidades del periodo enero-noviembre 2008 fue entre 13,26 °C y 26,35 °C y entre 34,45 y 38,7 psu (Figura 5 y Figura 6). Los registros continuos de temperatura permitieron detectar las elevadas temperaturas de finales del mes de julio y principios de mes de agosto que alcanzaron un máximo de 29,79 °C, y superiores a 28 °C desde el 27 de julio hasta el 7 de agosto (Figura 7).

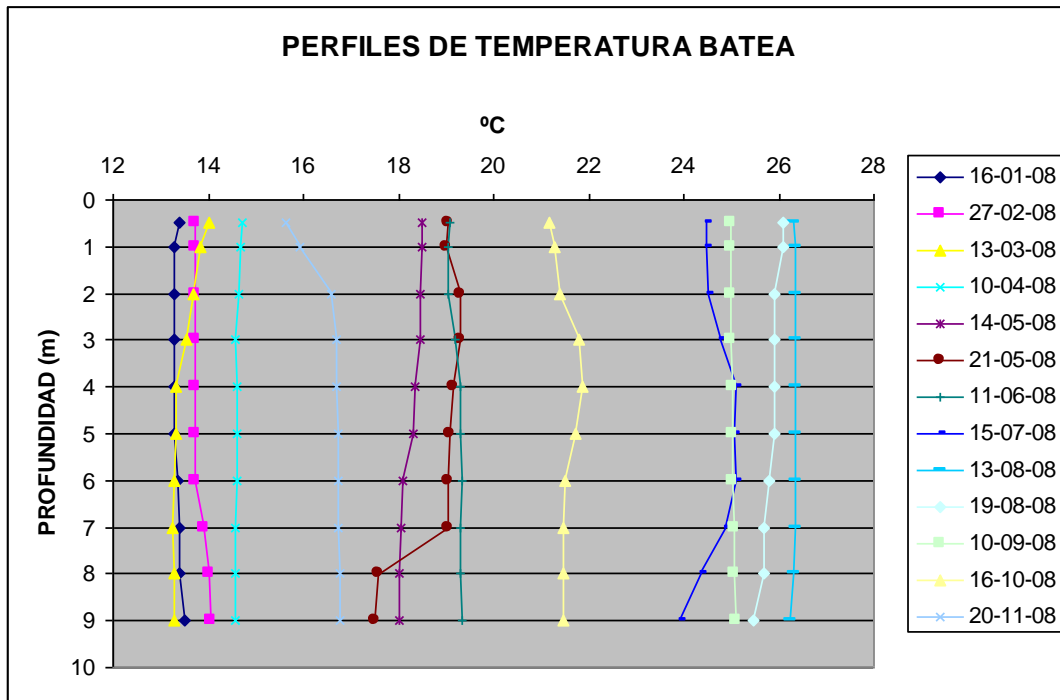


Figura 5: Perfiles mensuales de temperatura en la batea de enero a noviembre 2008.

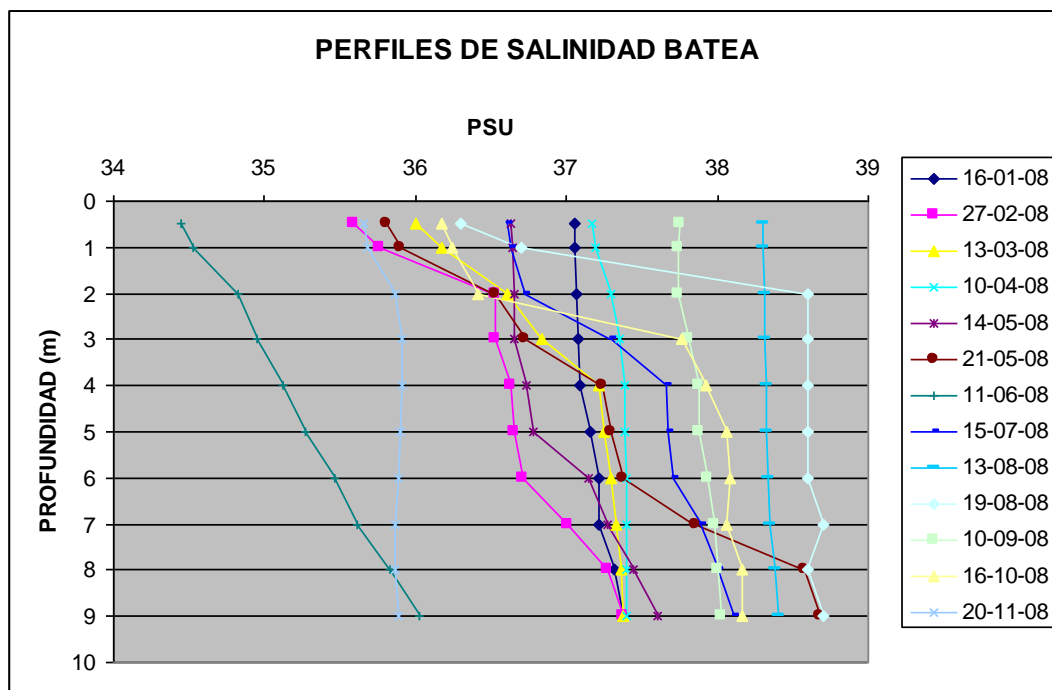


Figura 6: Perfiles mensuales de salinidad en la batea de enero a noviembre 2008.

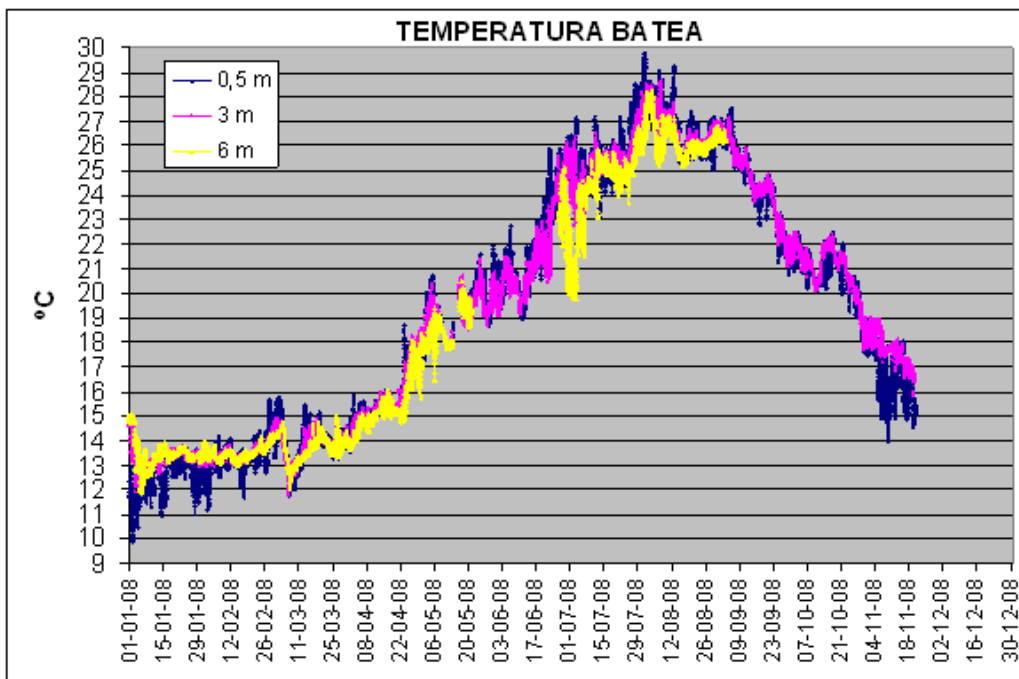


Figura 7: Registro en continuo de temperatura a 3 profundidades 0,5m, 3m, 6m, en la batea de enero a noviembre 2008.

Las concentraciones de oxígeno disuelto medidas mensualmente en la columna de agua estuvieron entre 5,69 y 8,54 mg/L (Figura 8).

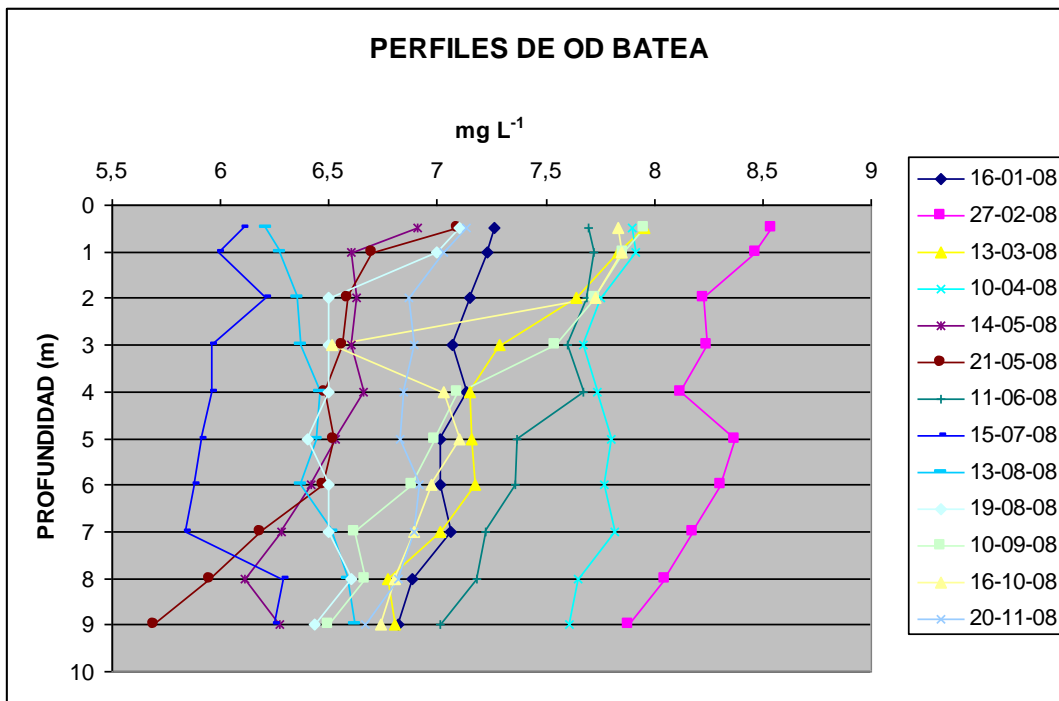


Figura 8: Perfiles mensuales de concentración de oxígeno disuelto en la batea de enero a noviembre 2008.

Los promedios de TPM (materia particulada total) son parecidos a las 3 profundidades escogidas, sin embargo el % de POM (materia orgánica particulada) es superior en superficie y disminuye con la profundidad (Tabla II, Tabla III, Tabla IV y Figura 9).

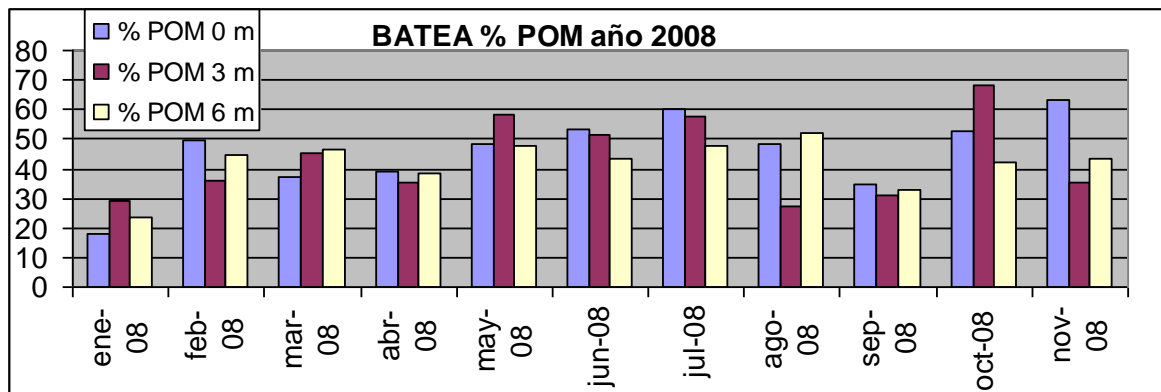


Figura 9: Porcentaje de POM a las 3 profundidades de 0,5 m, 3m y 6 m con frecuencia mensual en el periodo enero-noviembre 2008.

Tabla II: Promedios de TPM, PIM, POM y % de POM de enero a noviembre 2008.

	TPM (mgL <sup>-1</sup> )	PIM (mgL-1)	POM (mgL-1)	% POM
0,5 m	3,72	2,18	1,54	45,9
3 m	3,81	2,30	1,51	43,3
6 m	3,67	2,21	1,46	42,0

Tabla III: Mínimos de TPM, PIM, POM y % de POM de enero a noviembre 2008.

	TPM (mgL <sup>-1</sup> )	PIM (mgL-1)	POM (mgL-1)	% POM
0,5 m	2,07	0,83	1,00	18,2
3 m	2,13	0,87	0,90	27,5
6 m	1,90	1,00	0,90	23,8

Tabla IV: Máximos de TPM, PIM, POM y % de POM de enero a noviembre 2008.

	TPM (mgL <sup>-1</sup> )	PIM (mgL-1)	POM (mgL-1)	% POM
0,5 m	6,23	5,23	2,05	63,4
3 m	6,53	4,50	2,03	68,4
6 m	6,23	4,20	2,03	52,0

Se detectaron elevadas concentraciones de TPM en el mes de enero pero eran debidas a PIM, las concentraciones más elevadas de POM se midieron en los meses de agosto y septiembre 2008 (Figura 10).



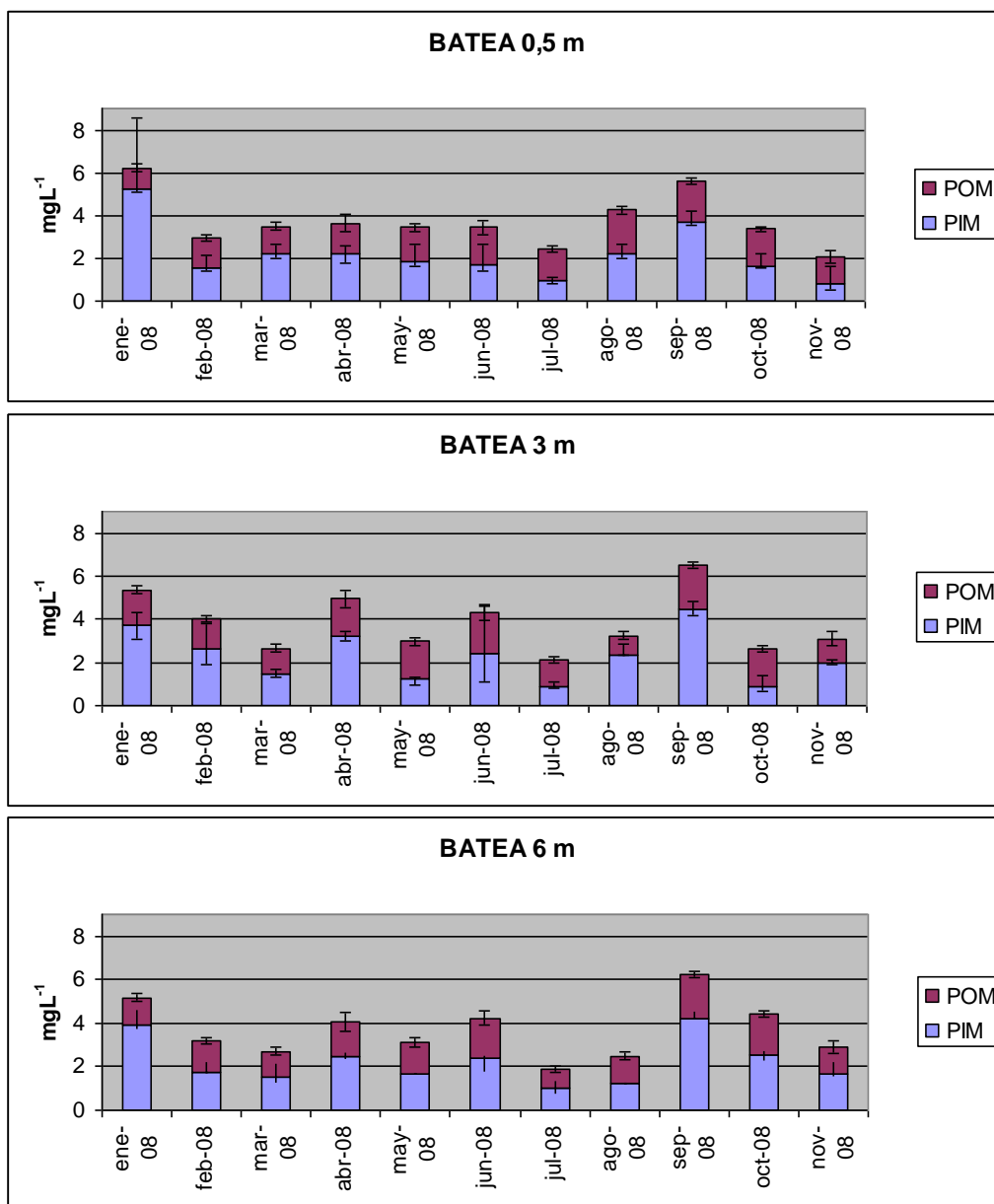


Figura 10: Concentraciones mensuales de POM y PIM (mg/L) a las 3 profundidades escogidas de enero a noviembre 2008.

El promedio de las concentraciones de clorofila en las 3 profundidades y durante el periodo de enero a noviembre 2008 fue de 1,66  $\mu\text{g/L}$  (Figura 11), en el mes de junio se detectaron concentraciones muy elevadas de clorofila coincidiendo con una proliferación de diatomeas.

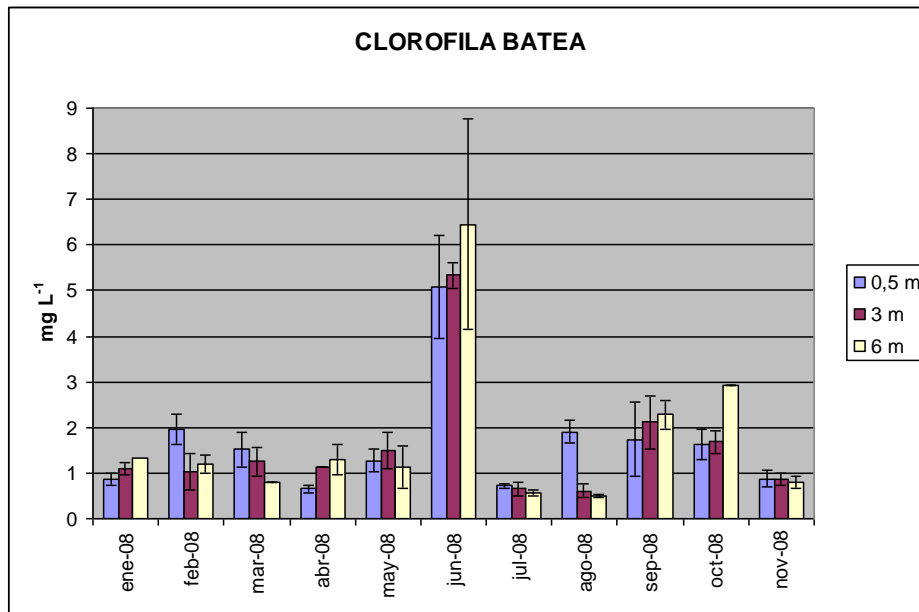


Figura 11: Concentración de clorofila en las 3 profundidades de 0,5 m, 3 m y 6 m de enero a noviembre 2008.

El índice de calidad del seston clorofila/TPM en promedio fue de 0,45 y alcanzó el valor máximo en el mes de junio con un valor de 2,32 ( Figura 12).

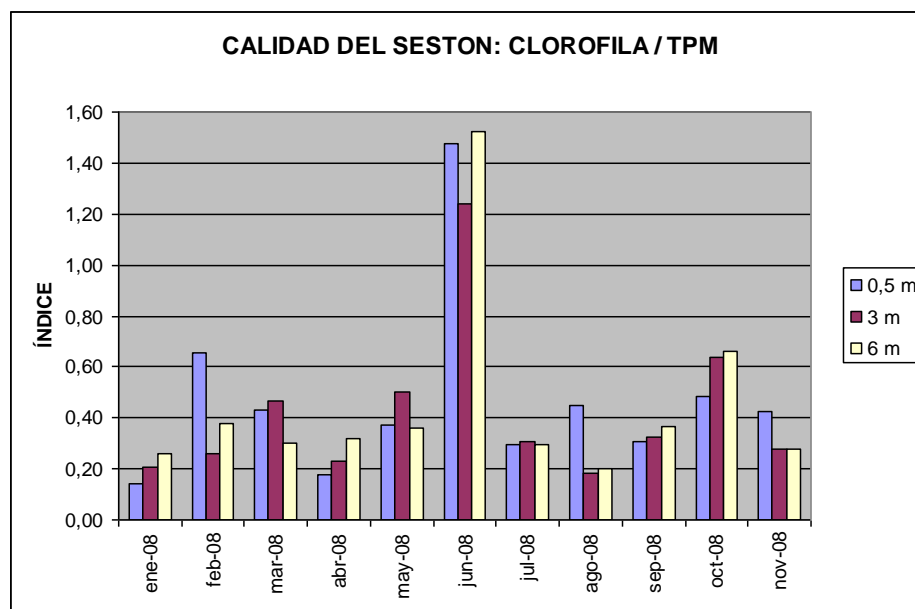


Figura 12: Índice de calidad del seston a las 3 profundidades de 0,5m, 3m y 6m.

Los valores más bajos de oxígeno disuelto se alcanzaron en los meses de septiembre, agosto y julio con concentraciones inferiores a los 7 mg/L mientras que los más elevados se midieron en abril, febrero y marzo con concentraciones superiores a los 8 mg/L. Se detectaron valores elevados de pH en abril y mayo

con promedios en la columna de agua de 9,3 y 8,9 respectivamente. En agosto se midieron valores bajos (inferiores a 7,4) en superficie hasta 2 m de profundidad. Los valores más elevados de salinidad se midieron en septiembre y julio con promedios de 38,24 y 38,20 psu respectivamente. Los valores más bajos se detectaron en febrero y en enero con promedios de 33,11 y 34,99 psu respectivamente. La temperatura a lo largo de la columna de agua fue bastante uniforme para cada día de muestreo excepto en el mes de junio en el que se detectó una diferencia de más de 4 grados entre la temperatura de superficie y fondo. En estos muestreos mensuales los valores más elevados se midieron en el mes de agosto seguido de septiembre y julio con promedios de columna de agua de 26,4, 25,4 y 25,1 respectivamente (Figura 13). Se detectó una situación de fuerte estratificación en el mes de mayo (Figura 14 y Figura 15). La medida de clorofila in vivo nos muestra valores máximos durante esta situación de estratificación del mes de mayo (Figura 16), mientras que los valores de turbidimetría más elevados se detectaron en los meses de agosto y septiembre (Figura 17). El registro continuo de temperaturas nos indica que temperatura mínima registrada fue de 7,77 °C en superficie en el mes de enero, mientras que a las profundidades de 3 y 6 m la temperatura mínima fue de 10,54 y 10,61 °C respectivamente (Figura 18). Los días 15, 16 y 17 de agosto la temperatura medida en continuo a 0,5 y 3 m de profundidad superaron los 28°C (Figura 19). La concentración de clorofila durante el periodo enero-septiembre 2009 fue en promedio de 1,24 1,18 1,17 mg/m<sup>3</sup> a las profundidades de 0,5, 3 y 6 m. Los valores más elevados se midieron en el mes de mayo con un promedio de 2,76 mg/m<sup>3</sup> para las 3 profundidades, mientras que los valores más bajos se midieron en el mes de agosto (Figura 20). La concentración de seston máxima se detectó en las muestras de septiembre con valores promedio de 9,12. En los meses de enero, febrero y marzo la concentración de seston estuvo entre 3,01 y 3,72 mg/L. En los meses de abril y agosto se detectaron las concentraciones más bajas de seston con 2,07 y 2,37 mg/L en promedio para la columna de agua (Figura 21).

El contenido en POM más elevado se detectó en el mes de septiembre seguido de julio y mayo, con promedios de 1,92, 1,77 y 1,58 mg/L respectivamente, mientras que los contenidos más bajos en POM se midieron en las muestras recogidas en agosto, febrero y abril con 0,52, 1,28 y 1,30 mg/L respectivamente. El % de POM más elevado fue del 69% en el mes de julio, seguido de abril y mayo con 63 y 61%. Los valores más bajos fueron en los meses septiembre y agosto con 21 y 22% (Figura 21). Hubo niveles de *Pseudo-nitzschia* spp. por encima de la alerta en los meses de marzo y julio, en septiembre el género *Pseudo-nitzschia* también fué abundante pero por debajo del nivel de alerta. (el nivel de alerta es de 200.000 cel/L). *Dinophysis sacculus* y *D rotundata* estuvieron presentes en mayo y julio pero en densidades muy bajas. En agosto la abundancia de fitoplancton fué baja y se observó presencia de pequeños nanoflagelados.

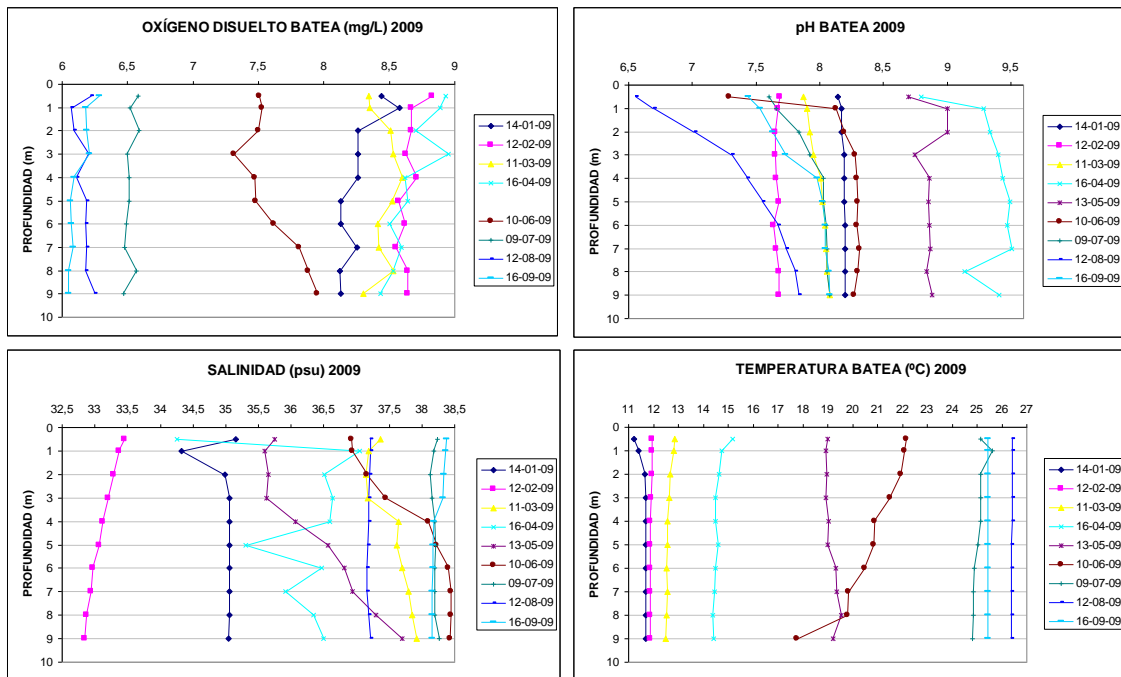


Figura 13: Perfiles verticales de concentración de oxígeno disuelto, pH, salinidad y temperatura en la batea con frecuencia mensual desde enero hasta septiembre del 2009.

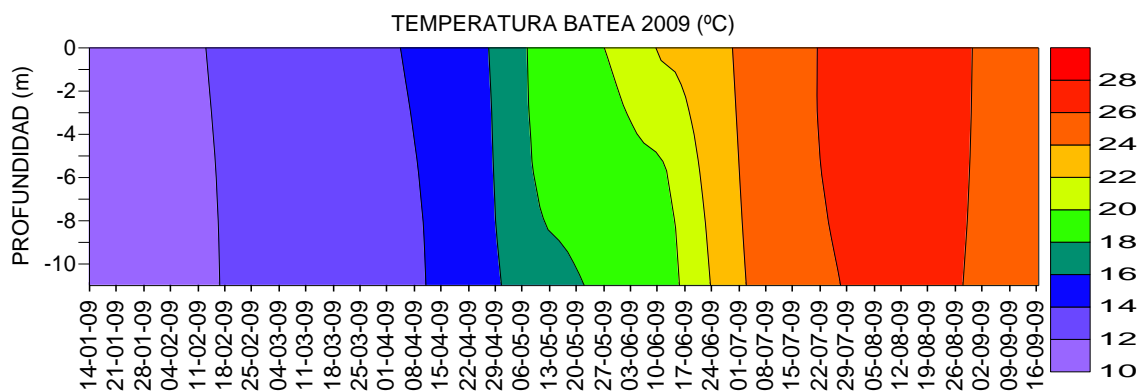


Figura 14: Temperatura en la batea desde enero hasta febrero del 2009, interpolación a partir de los datos obtenidos en los muestreos mensuales.

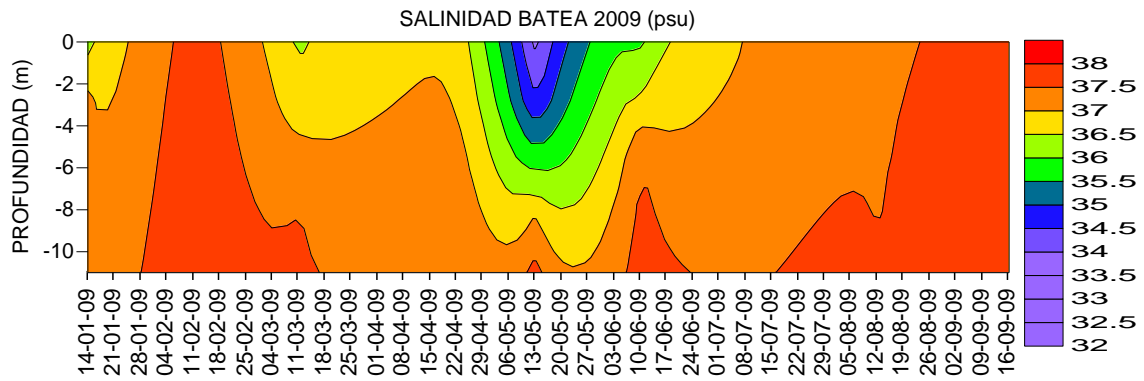


Figura 15: Salinidad en la batea desde enero hasta septiembre del 2009, interpolación de los datos obtenidos en los muestreos mensuales.

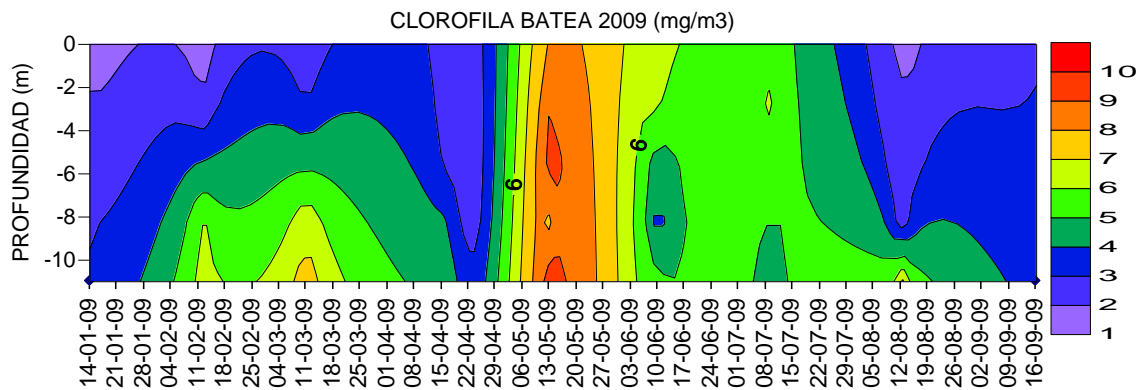


Figura 16: Clorofila en la batea desde enero hasta septiembre del 2009, interpolación de los datos obtenidos en los muestreos mensuales.

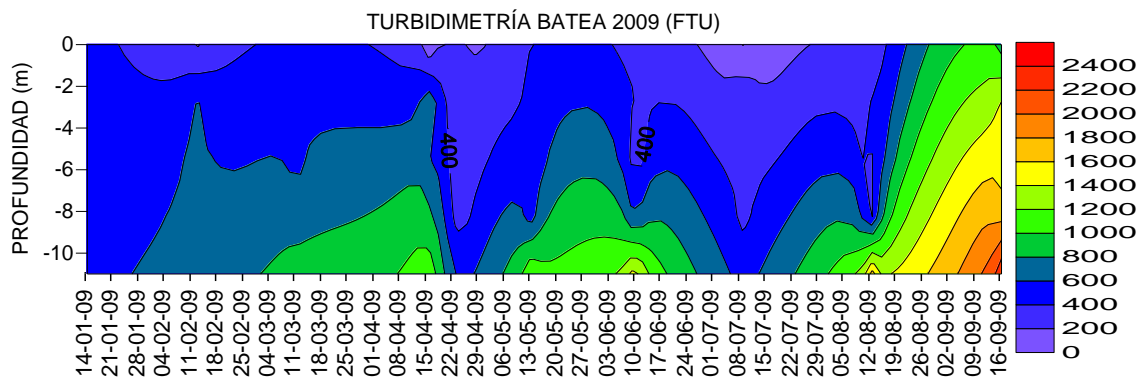


Figura 17: Turbidimetría en la batea desde enero hasta septiembre del 2009, interpolación de los datos obtenidos en los muestreos mensuales.

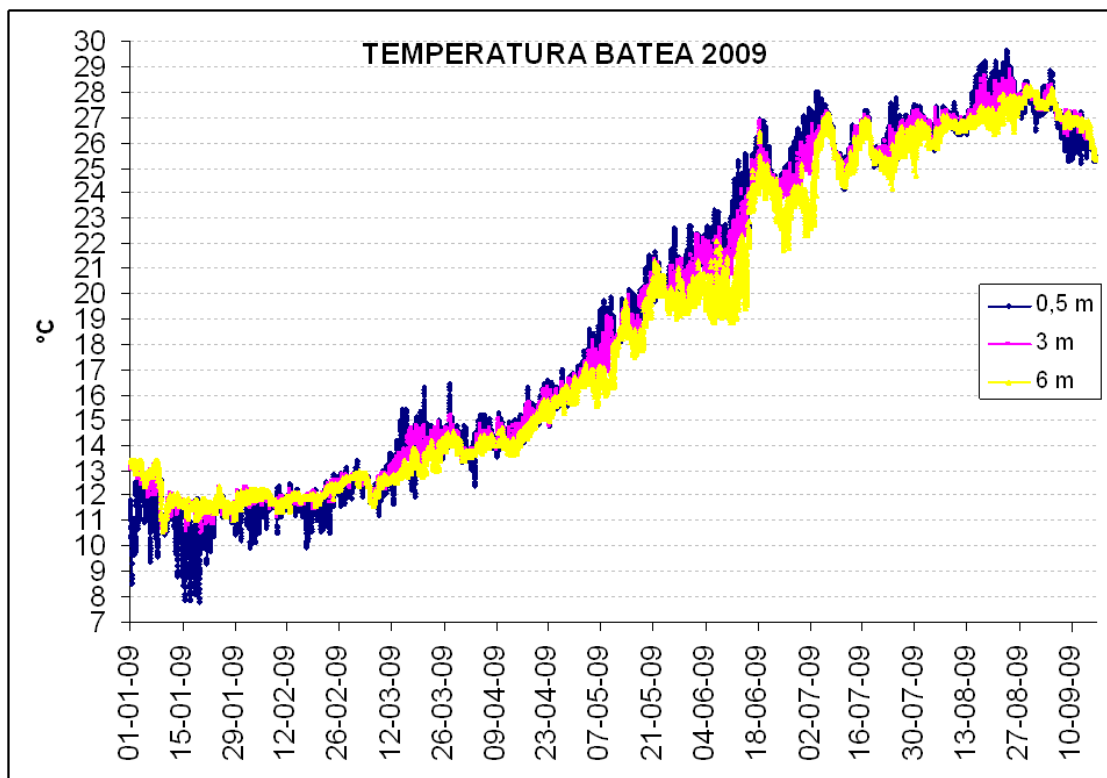


Figura 18: Temperatura en la batea registrada en continuo a las profundidades de 0,5, 3 y 6 metros desde enero hasta septiembre del 2009.

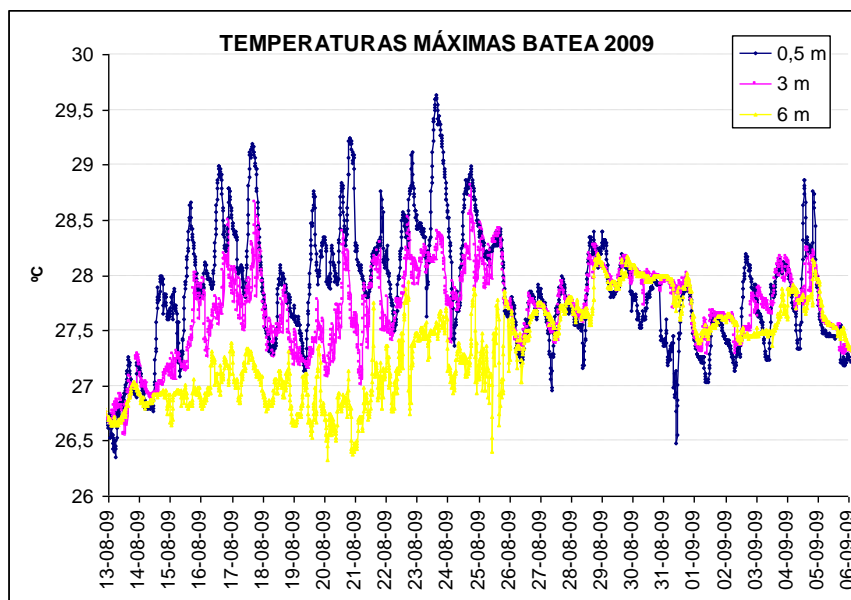


Figura 19: Temperaturas máximas en la batea durante los meses de agosto y principios de septiembre del 2009.

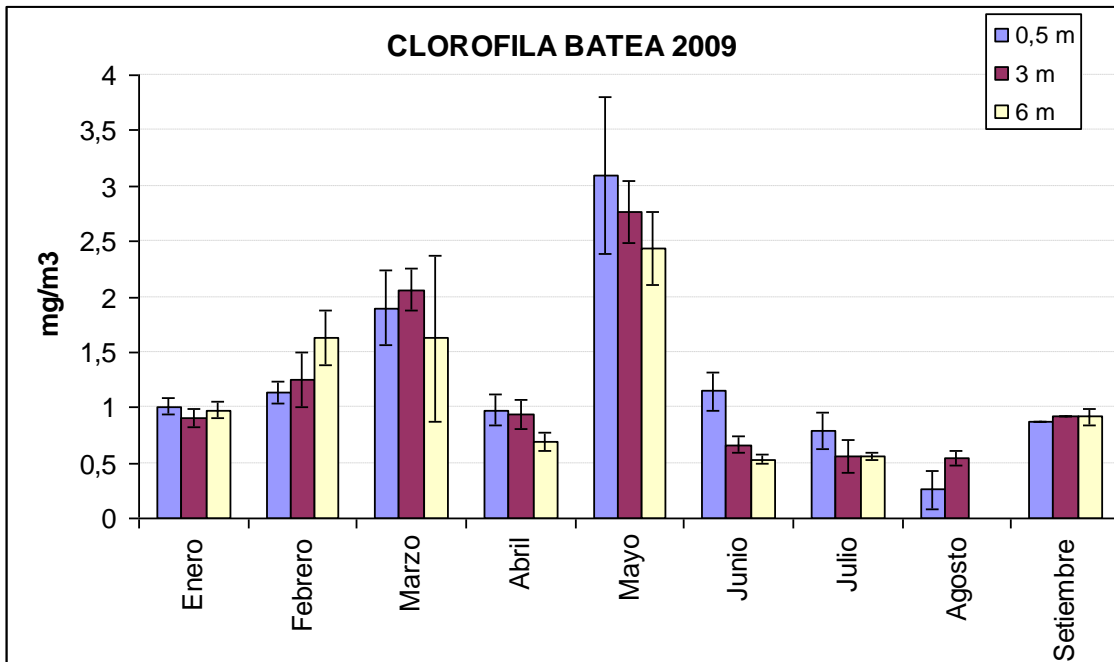
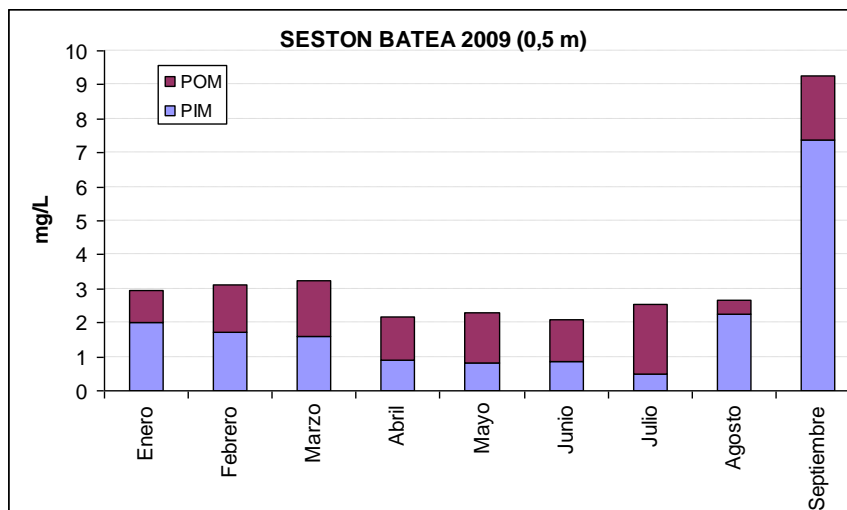


Figura 20: Concentraciones de clorofila en la batea a las profundidades de 0,5, 3 y 6 metros en los meses de enero a septiembre del 2009.



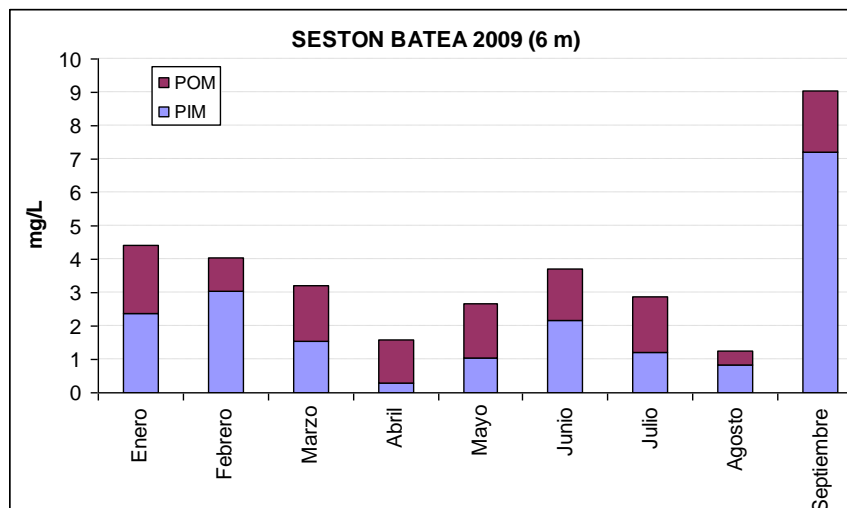
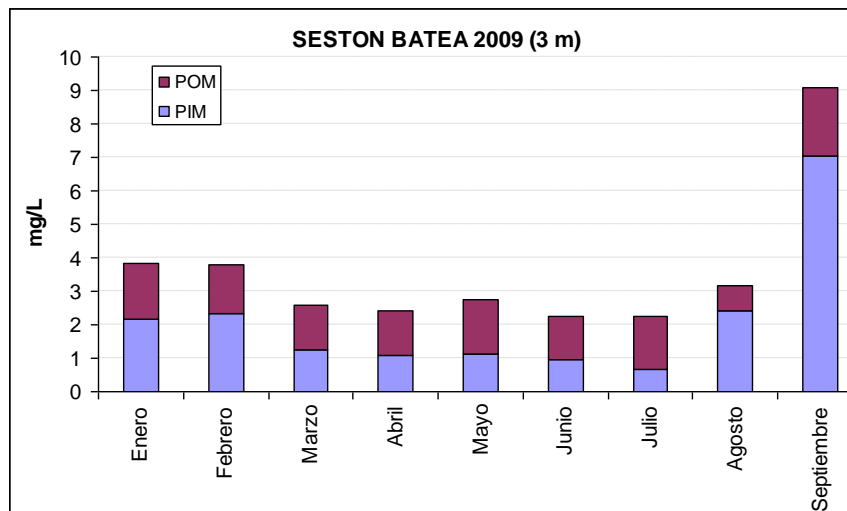


Figura 21: Concentración de seston en la batea a 3 profundidades. POM es materia orgánica particulada, PIM es la materia inorgánica particulada.

## 2.4.2. Línea 1: Seguimiento del cultivo del mejillón en instalaciones en mar abierto

### 2.4.2.1. Tarea 1.1: Estudio del crecimiento y mortalidad

#### Crecimiento y mortalidad del mejillón

Las primeras cuerdas de mejillón colocadas en junio 2007 tenían una talla inicial de 24,2 mm y en el mes de octubre alcanzaron una talla de 37.9 mm (Figura 22). La tasa de crecimiento mínima durante este período fue de 0,8 mm/mes en agosto y la máxima de 6,1 mm/mes en septiembre.



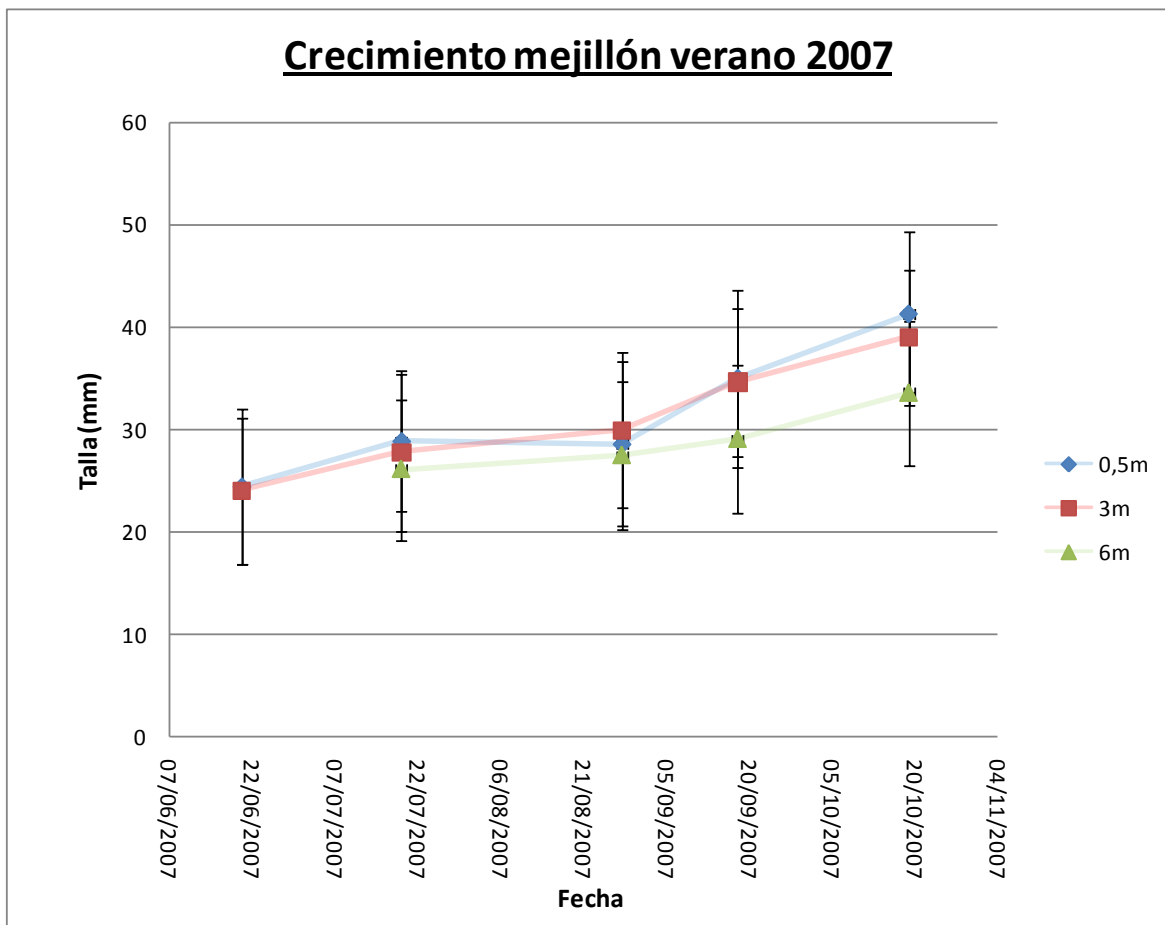


Figura 22. Crecimiento del mejillón en la batea instalada en Les Cases d'Alcanar.

Para el ciclo 2007-2008, la talla media del mejillón al inicio del estudio fue de  $33,42 \pm 6,82$  mm. El crecimiento fue continuado durante todo el ciclo de cultivo (Figura 23) aunque mayor en el periodo octubre 2007-marzo 2008. De marzo a agosto el crecimiento se ralentizó en todas las profundidades. Transcurridos ocho meses del cultivo, se observa que el crecimiento fue mayor en los ejemplares que se desarrollaron a 0,5 metros de profundidad ( $57,18 \pm 7,08$  mm) con respecto a los de 3 m ( $54,74 \pm 6,71$ ) y fondo ( $50,50 \pm 6,42$ ). Sin embargo es curioso observar que en Agosto la talla media de los mejillones cultivados a las tres profundidades coincidió (60,8 mm), debido al incremento en la tasa de crecimiento que mostraron los de más profundidad durante julio (4,5 mm), mientras que a 0,5 y 3 m de profundidad la talla no se incrementó respecto a la del mes anterior.

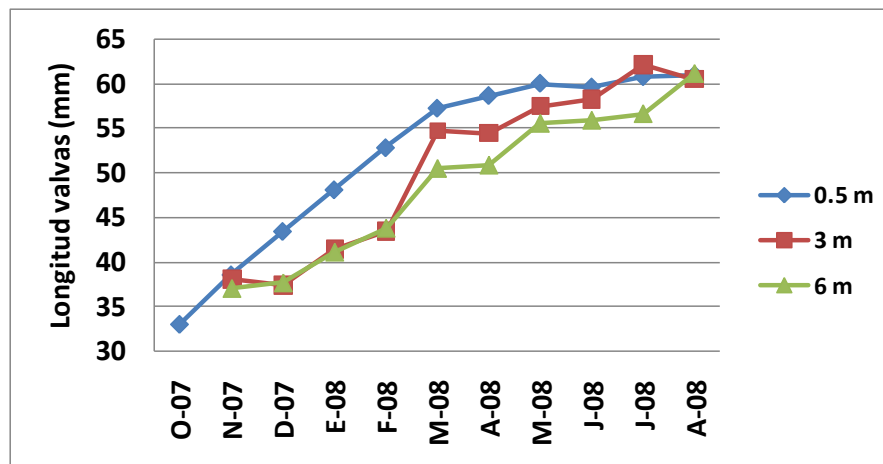


Figura 23: Evolución de la talla del mejillón en la batea flotante

Respecto a la mortalidad, ésta se mantuvo a niveles por debajo del 5% de octubre 2007 a mayo 2008 (Figura 24), a excepción de marzo a 6 m de profundidad, cuando alcanzó el 8%. Durante junio y julio el valor más elevado llegó al 9% en superficie en julio, pero fue entre julio y agosto que la mortalidad alcanzó el 30% en superficie, 11.5% a 3 m y 9.4% a 6 m de profundidad.

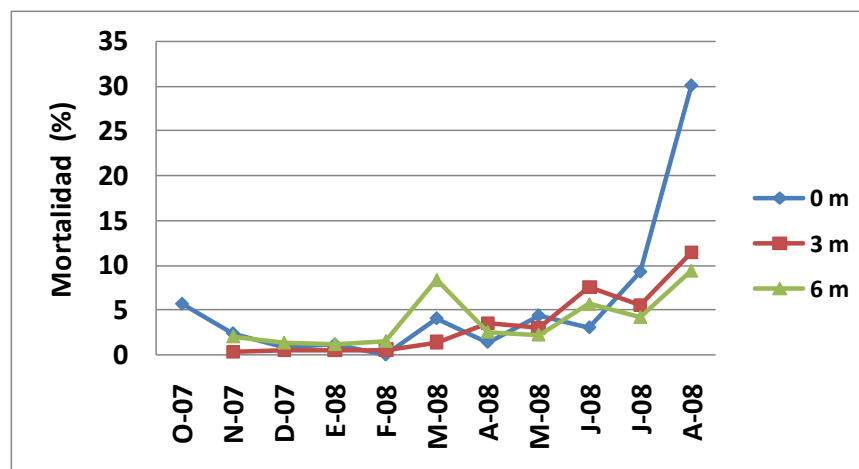


Figura 24. Evolución de la mortalidad del mejillón en la batea flotante

A pesar de este aumento de la mortalidad en verano, la supervivencia del mejillón fue superior fuera de las bahías del delta del Ebro, donde tiene lugar actualmente todo el cultivo comercial, ya que en la bahía de Alfacs la mortalidad alcanzó el 100% en el mismo periodo.

La talla media del mejillón al inicio del estudio fue de  $31,24 \pm 7,94$  mm. El crecimiento fue continuado durante todo el ciclo de cultivo (Figura 25). Entre noviembre 2008 y enero 2009 los incrementos de talla oscilaron entre 4,3 y 1.4 mm/mes. De enero a febrero el crecimiento se ralentizó a 3 y 6 metros de profundidad aunque se mantuvo en superficie. El crecimiento de los mejillones situados en superficie fue mayor respecto de los de 3 y 6 metros entre enero y

marzo, pero en mayo y al final del ciclo de cultivo no se observan diferencias significativas en la talla media de los mejillones cultivados a las tres profundidades.

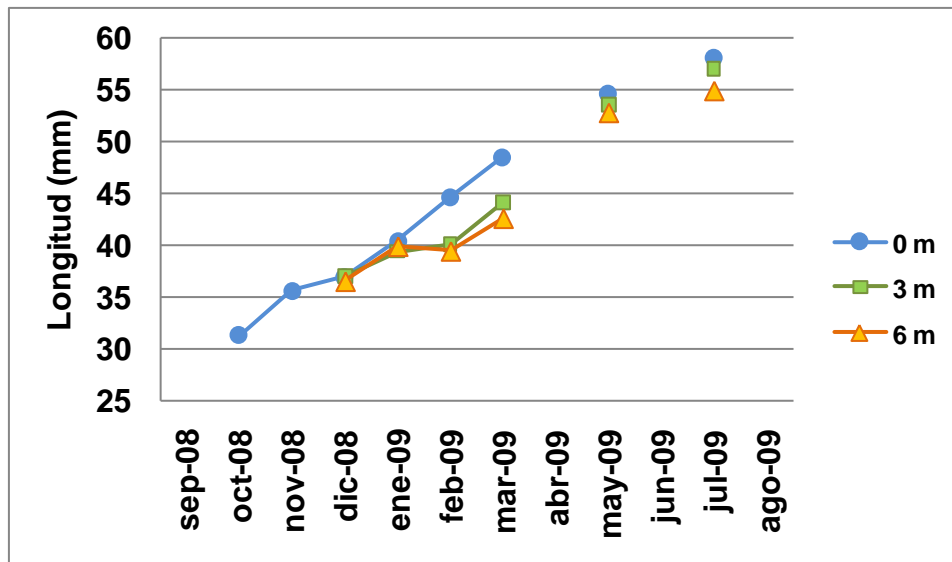


Figura 25: Evolución de la talla del mejillón en la batea flotante

Respecto a la mortalidad, si no tenemos en cuenta la producida por la predación por peces, que sólo es fácilmente detectada cuando hay una desaparición masiva de los mejillones, ésta se mantuvo a niveles por debajo del 9% de octubre 2008 a julio 2009 (Figura 26). Sin embargo es importante señalar la elevada mortalidad sufrida (aproximadamente el 60%) una semana después de colgar las cuerdas de semilla, a principios de octubre, coincidiendo con la rotura de la red de protección de la batea. Igualmente la predación fue elevada en agosto, de forma que junto con el escaso número de mejillones que quedaban en la batea experimental en julio, no fue posible realizar el muestreo de agosto.

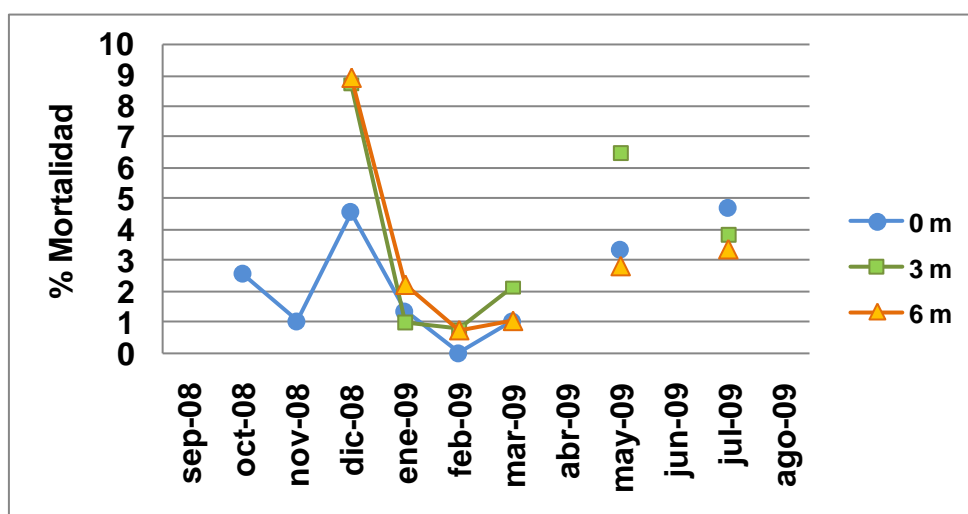


Figura 26. Evolución de la mortalidad del mejillón en la batea flotante

### Comparación del mejillón de talla comercial cultivado en la bahía de Alfacs y en Les Cases d'Alcanar

Comparando mejillones de talla comercial cultivados en la bahía de Alfacs y en Les Cases d'Alcanar se aprecia que, para un mismo rango de longitud establecido entre 61 y 65 mm (Figura 27), el peso de las valvas de los mejillones cultivados en Les Cases (offshore) fue superior al de los de la bahía de Alfacs ( $p < 0.005$ ).

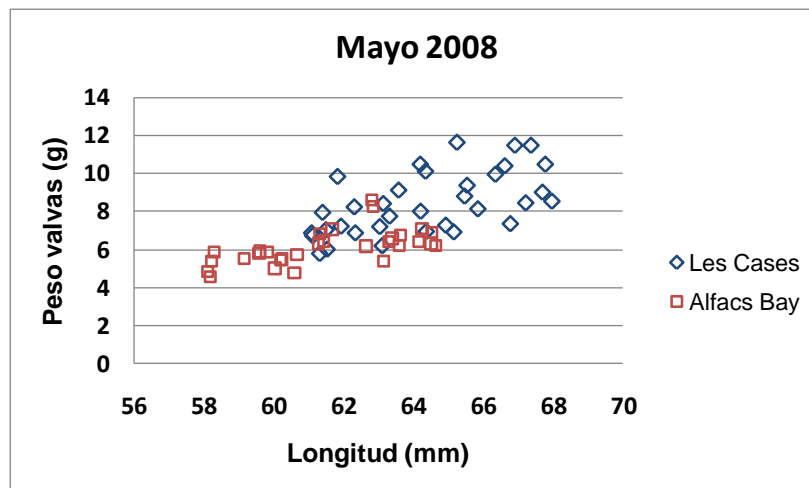


Figura 27. Comparación del peso de valvas del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar

Algo parecido ocurre en el caso del peso fresco ( $p < 0.05$ ) y seco de la carne ( $p < 0.001$ ) (Figura 28).

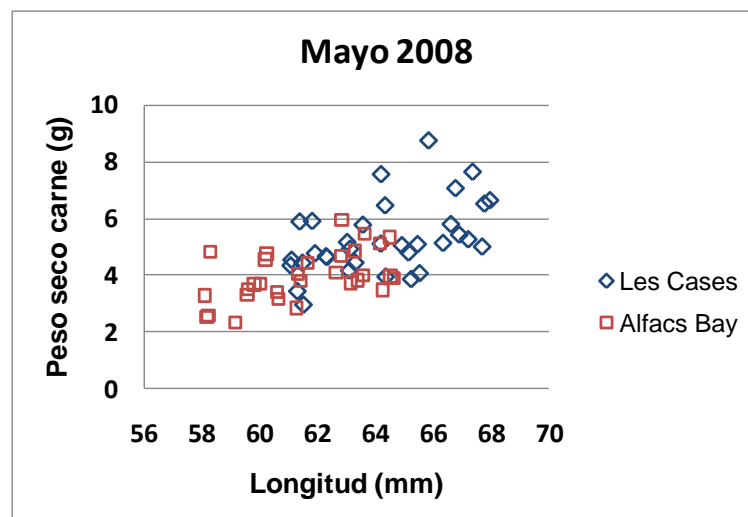


Figura 28. Comparación del rendimiento en carne del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar

Si tenemos en cuenta el peso total, expresado como la suma del peso fresco de las valvas más el de la carne una vez eliminada el agua intervalvar, los mejillones de Les Cases presentaron un rendimiento superior a los de Alfacs ( $p < 0.001$ ), con una media de  $13,14 \pm 1.98$  g frente a  $11.07 \pm 1.35$  g, es decir, un 15% superior (Figura 29).

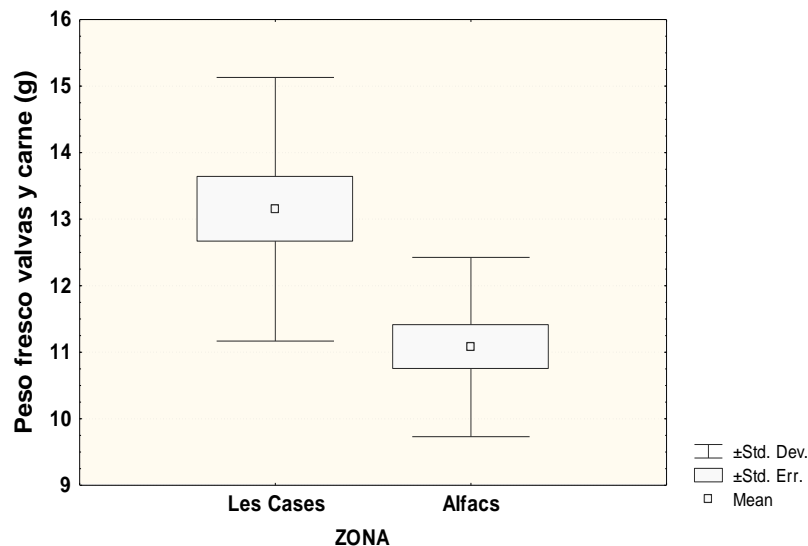


Figura 29. Comparación del rendimiento en peso total (valvas y carne) del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar.

Es de destacar que este resultado es de gran relevancia para el sector puesto que uno de los grandes problemas al que se enfrenta es el de las elevadas mortalidades veraniegas ocasionadas por las elevadas temperaturas que se alcanzan dentro de las bahías durante junio, julio y agosto.

Comparando a finales de mayo los mejillones de talla comercial cultivados en la bahía de Alfacs y en Les Cases d'Alcanar a 0,5 m. de profundidad se aprecia que, para un mismo rango de longitud, el peso de las valvas (Figura 30) de los mejillones cultivados en Les Cases (offshore) fue superior al de los de la bahía de Alfacs ( $p < 0.005$ ).

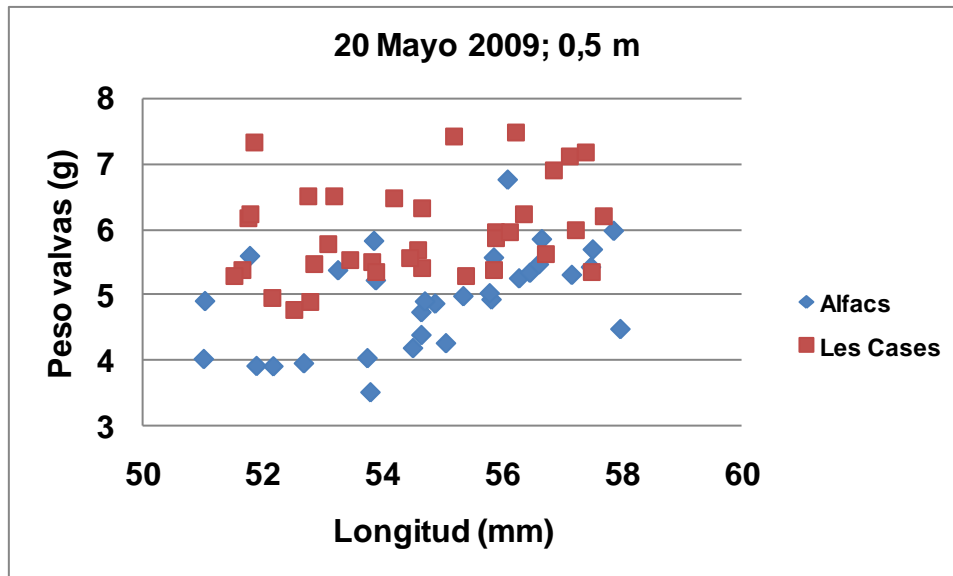
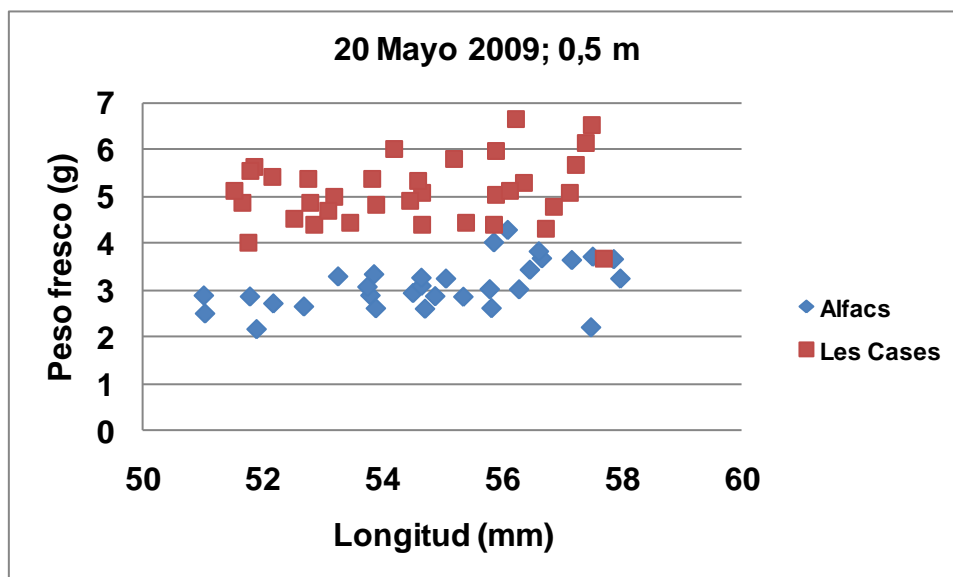


Figura 30. Comparación del peso de valvas del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar

Algo parecido ocurre en el caso del peso fresco ( $p < 0.05$ ) y seco de la carne ( $p < 0.001$ ) (Figura 31).



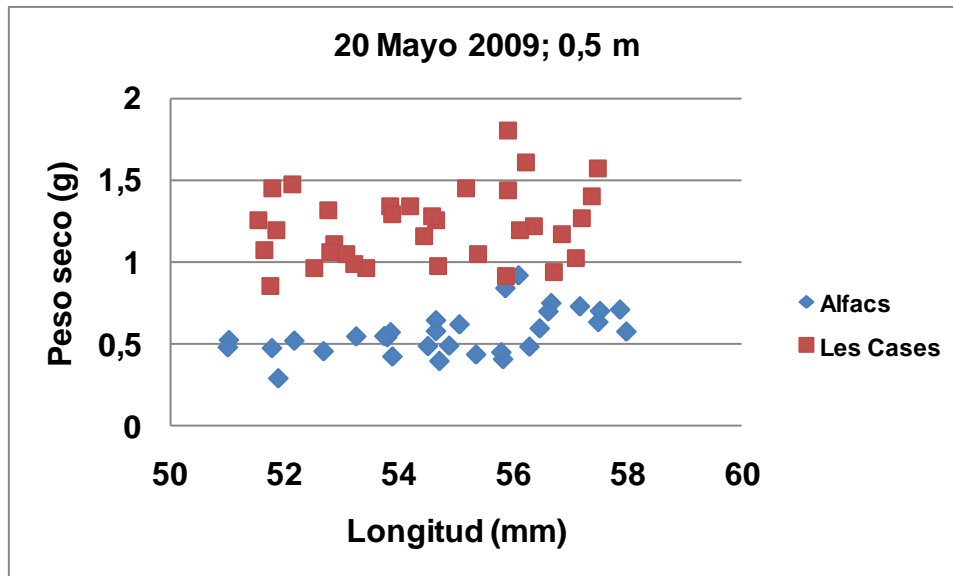


Figura 31. Comparación del rendimiento en carne del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar

Si tomamos como referencia un mejillón de talla 55 mm, en el caso de Les Cases el rendimiento obtenido fue superior a los de Alfacs ( $p < 0.001$ ), con un peso medio de 11,10 g frente a 8.10 g, es decir, un 27% superior, en el muestreo correspondiente a mayo 2009 (Tabla V).

Tabla V: Características biométricas de un mejillón "tipo" de talla 5,5 cm.

mejillón 5,5 cm	peso valvas (g)	peso fresco (g)	peso total (g)
Alfacs	4.95	3,15	8,10
Les Cases	5.98	5.12	11.00

La frecuencia de tallas de la población cultivada correspondiente a mayo 2009 mostró diferencias en función de la zona de cultivo, con tallas medias superiores en Alfacs ( $57,35 \text{ mm} \pm 5,62$ ) respecto de Les Cases ( $54,52 \text{ mm} \pm 4,93$ ) (Figura 32).

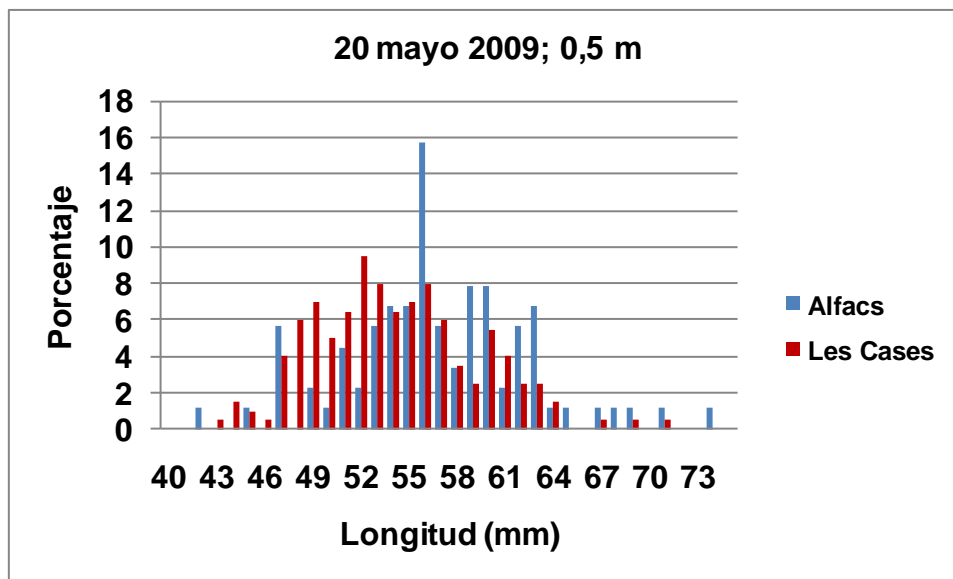


Figura 32. Frecuencias de tallas del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs y en la batea de Les Cases d'Alcanar.

Es de destacar que este resultado es de gran relevancia para el sector puesto que uno de los grandes problemas al que se enfrenta es el de las elevadas mortalidades veraniegas ocasionadas por las elevadas temperaturas que se alcanzan dentro de las bahías durante junio, julio y agosto. Por ello se procedió a hacer una nueva comparación del rendimiento a finales de julio, para averiguar si dichas diferencias se mantenían durante la época crítica.

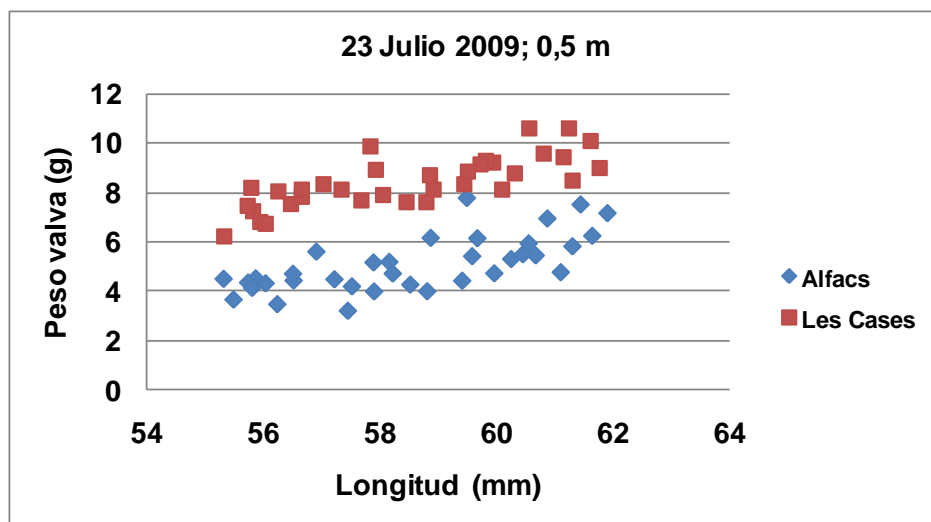


Figura 33. Comparación del peso de valvas del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar



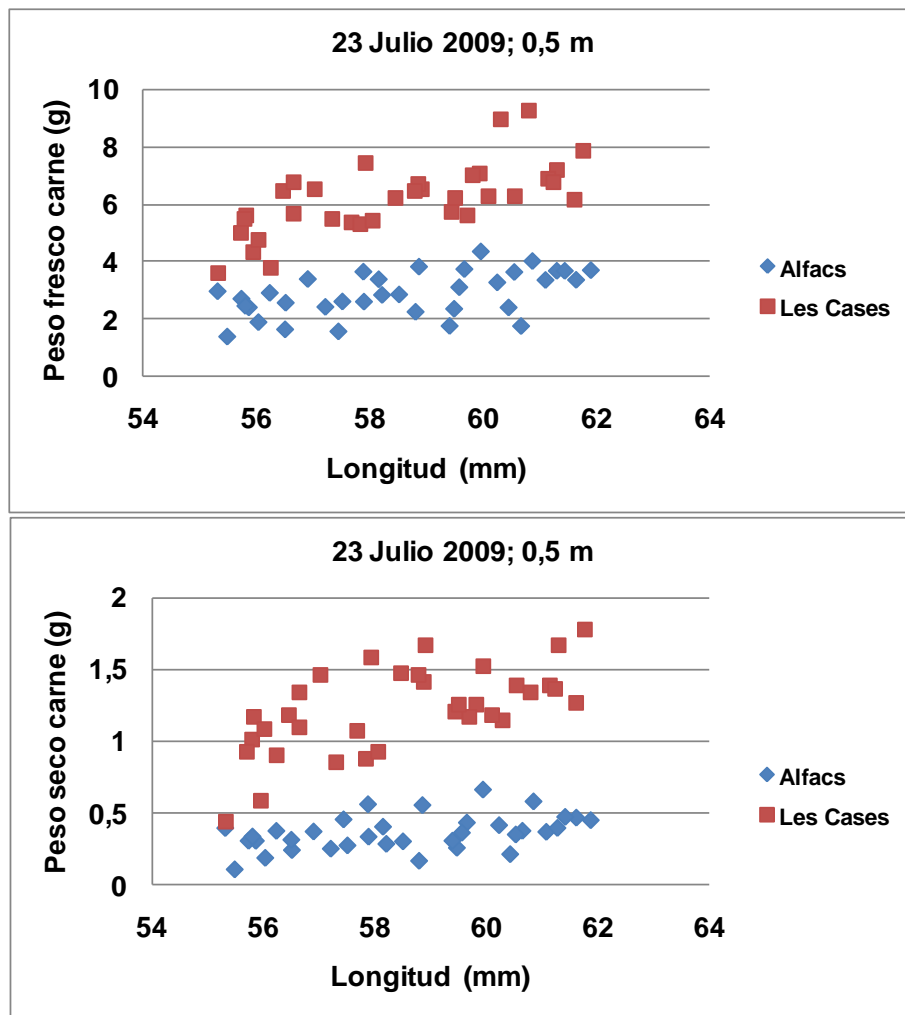


Figura 34. Comparación del rendimiento en carne del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs respecto del cultivado en la batea de Les Cases d'Alcanar.

En la Figura 33 y Figura 34 se aprecia que la superioridad del rendimiento de los mejillones cultivados en Les cases respecto de los de Alfacs es todavía más manifiesta después del verano. Respecto a la frecuencia de tallas de la población cultivada, si bien en mayo la talla media fue superior en Alfacs, a finales de julio la situación cambia y en ambos lugares la talla media se iguala (Alfacs: 58,98 mm  $\pm$  6,18; Les Cases: 58,23 mm  $\pm$  4,74) ( Figura 35).

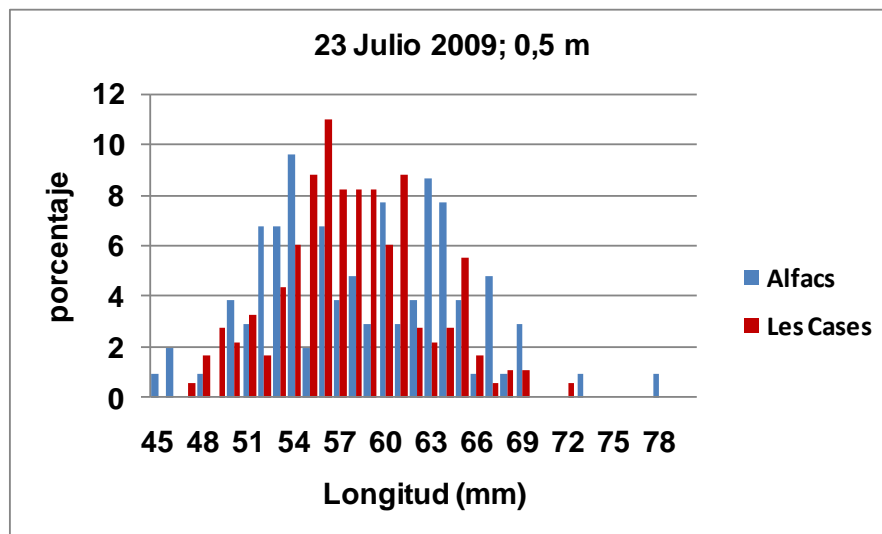


Figura 35. Frecuencias de tallas del mejillón cultivado en la bahía de Alfacs y en la batea de Les Cases d'Alcanar.

Si tomamos como referencia un mejillón de talla 60 mm, en el caso de Les Cases presentaron un rendimiento superior a los de Alfacs ( $p < 0.001$ ), con un peso medio de 16,96 g frente a 8,86 g, es decir, un 52% superior (Tabla VI).

Tabla VI: Características biométricas de un mejillón "tipo" de talla 6,0 cm.

mejillón 6 cm	peso valvas (g)	peso fresco (g)	peso total (g)
Alfacs	5,84	3,02	8,86
Les Cases	9,27	7,69	16,96

## 2.4.2.2. Tarea 1.2: Estudio de la reproducción y reclutamiento

### Reproducción del mejillón

En la Figura 36 se muestran imágenes correspondientes a la escala de maduración empleada.

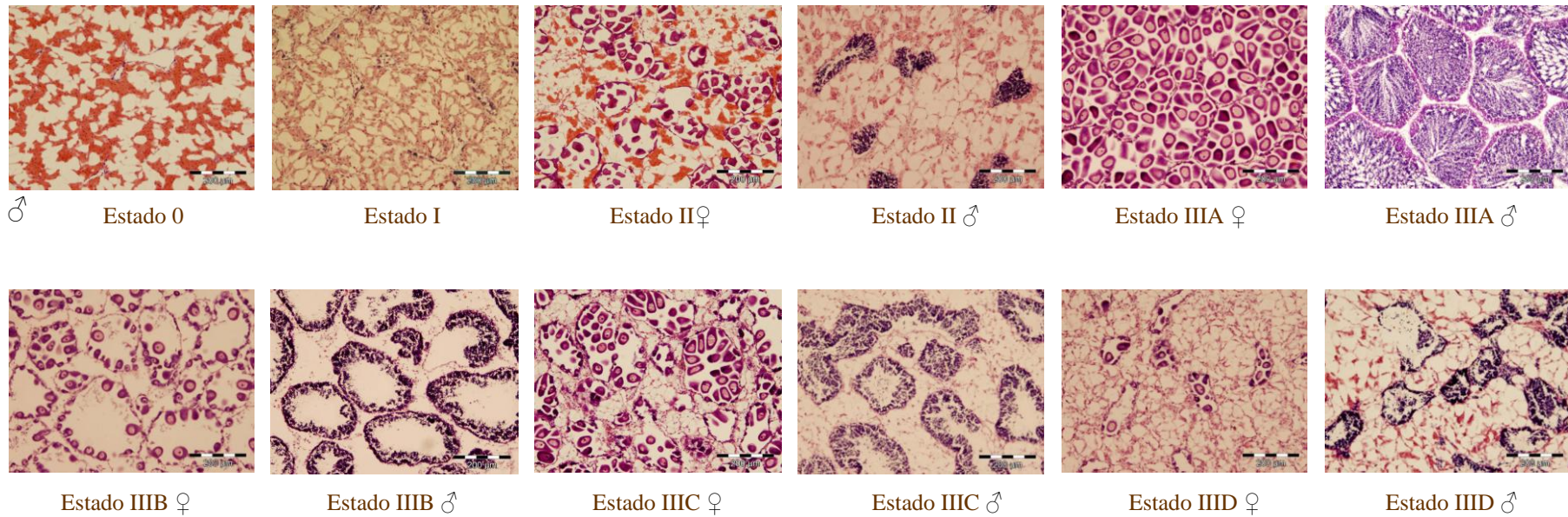


Figura 36. Imágenes microscópicas de los distintos estadios de maduración gonadal

En el ciclo de cultivo 2007-2008, el ciclo gonadal presentó etapas de maduración y reposo bien delimitadas a lo largo del estudio (Figura 37). Desde octubre 2007 hasta abril 2008 se observó una completa maduración de los folículos. En noviembre tuvo lugar una primera puesta, seguida de una nueva maduración en diciembre y enero, observándose una segunda puesta (de mayor intensidad) en febrero y total degradación de las gónadas entre abril y mayo. Durante junio y julio se observan unos mejillones con las gónadas degradadas y otros ya en reposo. La gametogénesis se inició nuevamente en septiembre 2008.

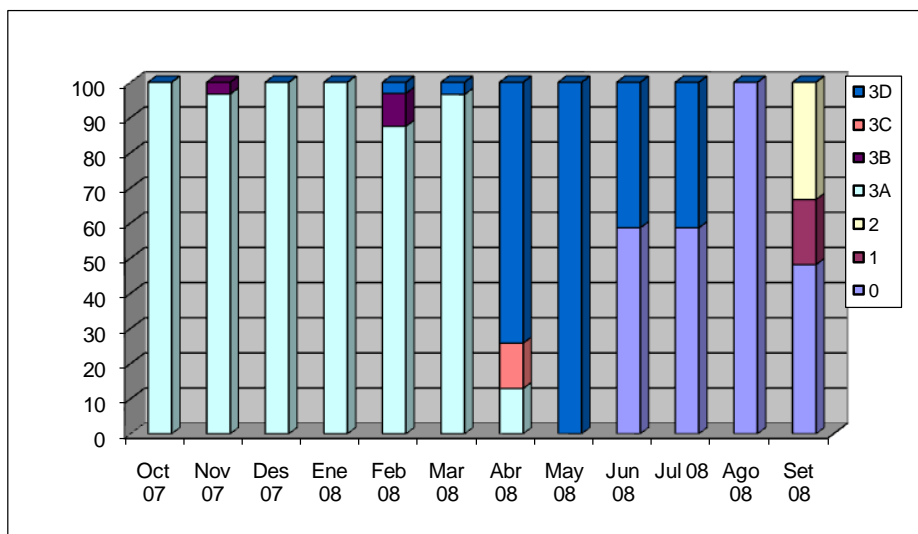


Figura 37. Ciclo gonadal de *Mytilus galloprovincialis* en la batea de Les Cases D'Alcanar

En las preparaciones histológicas del periodo comprendido entre mayo y septiembre 2008 se apreció la presencia de mejillones con patologías evidentes. Estos presentaban intrusión de hemocitos alrededor de la glándula digestiva, aunque las afectaciones más severas también mostraban intrusiones en todos los tejidos observados. En algún caso los hemocitos, vía diapedesis (paso de elementos a través de fenestraciones para dirigirse al foco de infección) penetraban en el intestino. Además, se observó la presencia anormal de células muco-secretoras en branquias así como de pigmento cerioide (indicador de focos necróticos y destrucciones traumáticas de tejido) en branquias y digestivo. Durante el mes de agosto aparecieron acúmulos de bacterias en distintos tejidos.

Durante el ciclo de cultivo 2008-2009, el ciclo gonadal presentó etapas de maduración y reposo bien delimitadas a lo largo del estudio (Figura 38). Aunque no se dispone de muestra anterior a noviembre, por el estado gonadal en este mes se deduce que la gametogénesis se inició en septiembre 2008. Desde noviembre hasta marzo 2009 se observó una completa maduración de los folículos. En diciembre 2008 y principalmente enero 2009 tuvo lugar el grueso de la puesta, persistiendo individuos maduros en febrero y marzo, de forma que tuvo lugar una segunda puesta de menor intensidad en marzo. Durante abril y mayo

se observó el inicio de la reabsorción gonadal, de forma que la totalidad de la población durante junio y julio presentó estados de reposo.

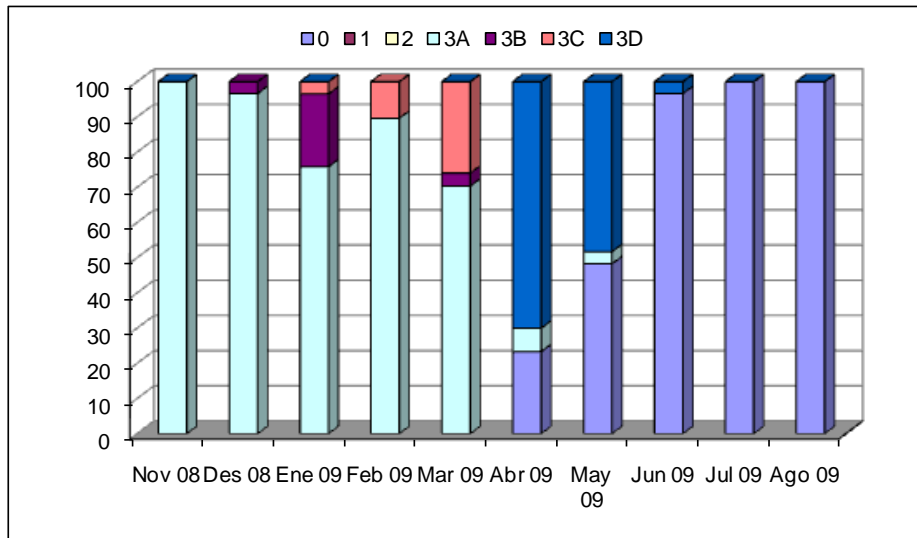


Figura 38. Ciclo gonadal de *Mytilus galloprovincialis* en la batea de Les Cases D'Alcanar.

### Captación de semilla:

La captación de semilla en las cuerdas colectoras comenzó a finales de diciembre 2007 y se mantuvo hasta finales de febrero. El mes con mayor captación fue enero (Tabla VII), especialmente en el periodo comprendido entre el 10 y el 30 de enero.

Tabla VII: Fechas colocación y extracción de las cuerdas colectoras, número de días sumergidas, total semilla captada por las cinco colectoras y talla media de la semilla.

Fechas colocación cuerdas	Fechas recogida cuerdas	Días sumergidas	Total semilla obtenida	Talla media (mm)
16/11/07	27/12/07	41	Sin captación	
27/12/07	10/01/08	14	1657 semilla/5 cuerdas	1.72
10/01/08	30/01/08	20	3008 semilla/5 cuerdas	2.36
30/01/08	27/02/08	28	218/1 cuerda	3.04
27/02/08	26/06/08	120	Sin captación	

La frecuencia de tallas de la semilla (Figura 39) muestra una distribución unimodal en el periodo comprendido entre el 27/12/07 y el 10/1/08, que se convierte en distribuciones multimodales en los periodos sucesivos. Siempre se mantiene la presencia de semilla de pequeña talla (1-1,5 mm), indicador de que los fenómenos de reclutamiento persisten hasta finales de febrero.

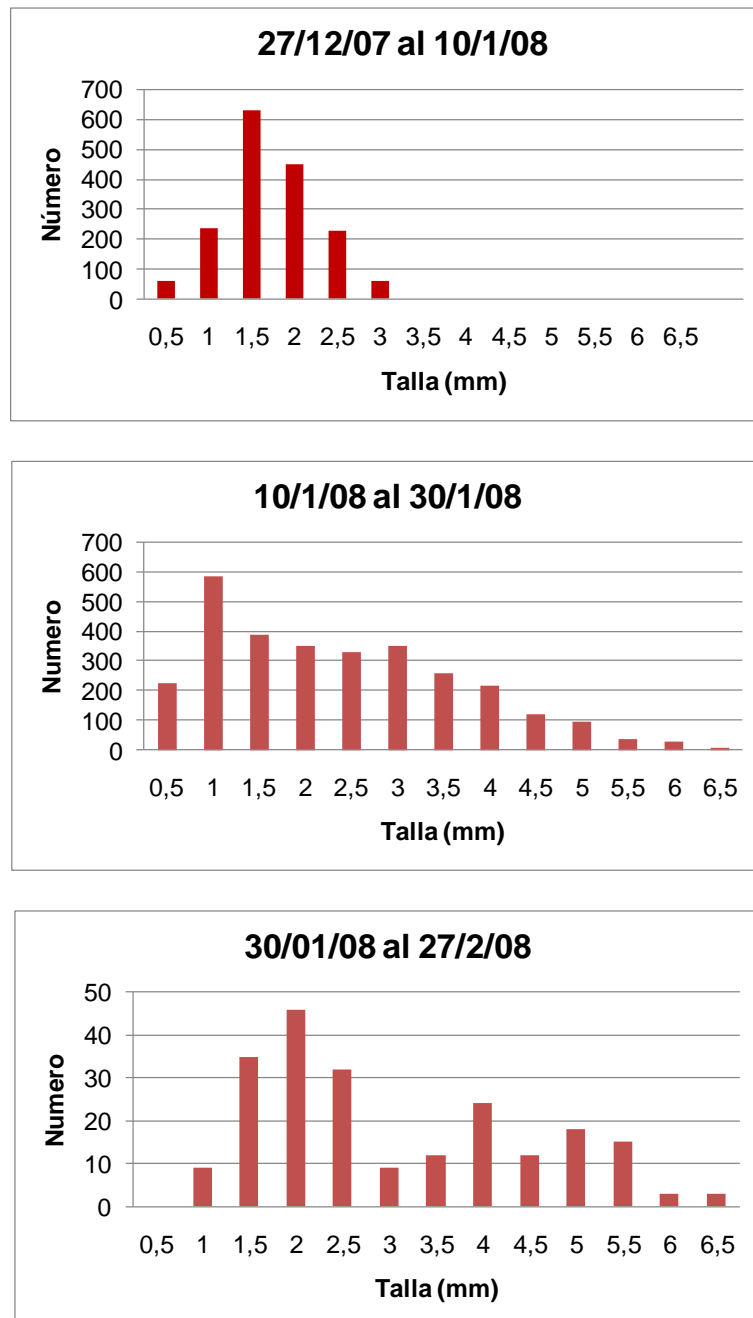


Figura 39. Frecuencias de talla de la semilla de mejillón colectada entre diciembre 2007 y febrero 2009.

El seguimiento de las épocas de reclutamiento basado en las cuerdas colectoras no es preciso puesto que durante los muestreos se puso de manifiesto la presencia de semilla de mejillón sobre la propia estructura de la batea o sobre las cuerdas de engorde sin que apareciera en las cuerdas colectoras. Es por ello se propone para el próximo año modificar el sistema para evaluar la captación, en

base al seguimiento de un cuadrado de 50 x 50 cm de la propia batea y también utilizando trozos de la red empleada por los productores para realizar el embuche.

Durante las dos visitas efectuadas en enero a la batea no se observó la presencia de semilla en la zona habilitada en la propia estructura con este fin, aunque sí que se apreció la presencia de semilla sobre las cuerdas de engorde, por lo que se decidió a finales de enero poner 3 cuerdas de captación y 3 trozos de red de embuche. Sin embargo este sistema tampoco resultó efectivo y el análisis realizado a mediados de marzo no mostró indicios de captación sobre las cuerdas colectoras, redes ni en el cuadrado de la batea.

#### 2.4.2.3. Tarea 1.3: Composición bioquímica y clases lipídicas del mejillón

En la Figura 40 aparece la evolución del peso seco individual a lo largo del periodo de cultivo. Los resultados obtenidos muestran una clara dinámica estacional en cierta manera ligada al proceso reproductivo. Las proteínas son el componente mayoritario para esta especie (Figura 41). Los lípidos son el componente que menor variación presenta a lo largo del año. Posiblemente su máximo valor, no detectado en nuestros muestreos, se encuentre situado entre los muestreos de noviembre 07 y febrero 08, atendiendo a la época de madurez sexual descrita para esta especie en esta zona (Galimany et al.,2005) (Figura 42). Los valores más elevados de carbohidratos detectados se corresponden con principios de verano (época de reposo y acumulación de reservas) (Figura 43).

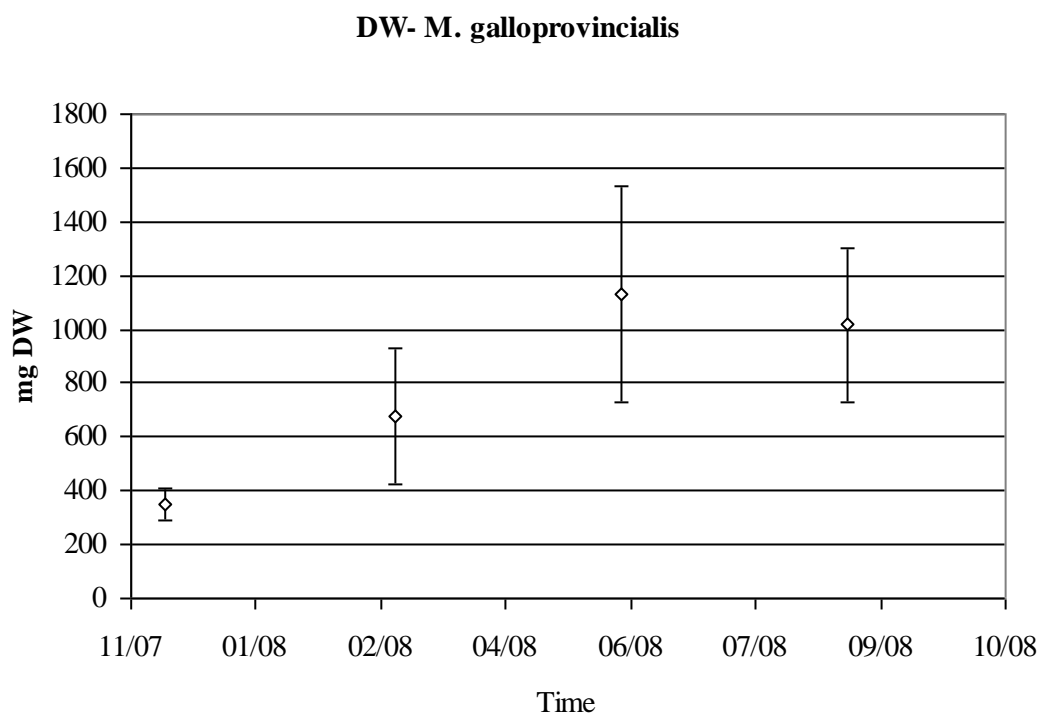


Figura 40: Variación del peso seco individual a lo largo del ciclo de cultivo.

### Proteins- *M. galloprovincialis*

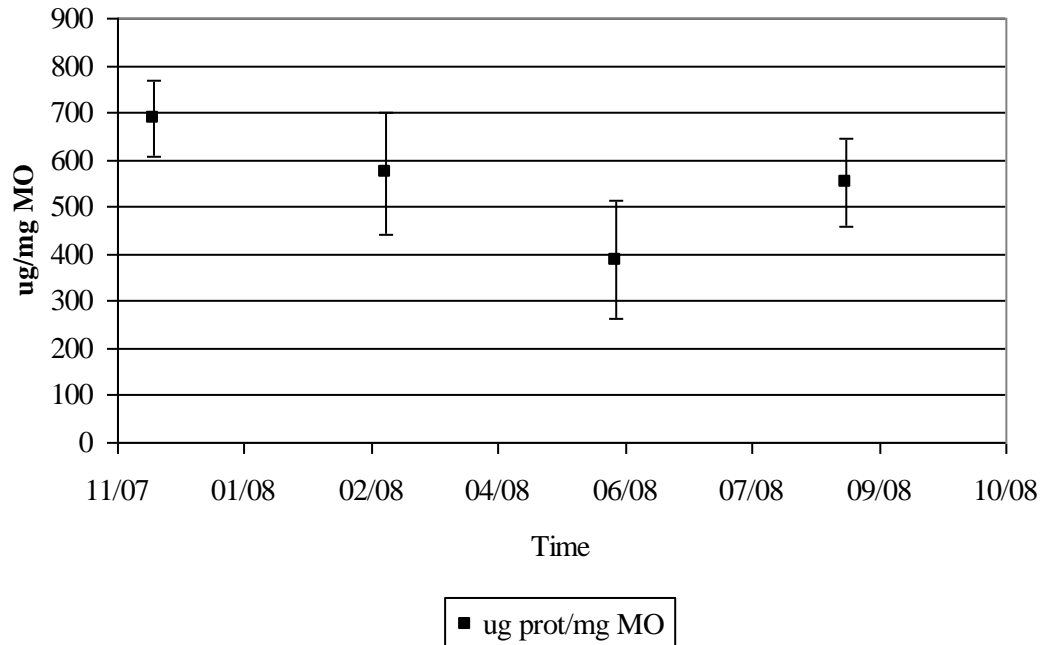


Figura 41: Variación del contenido en proteínas a lo largo del ciclo de cultivo.

### Carbohydrates- *M. galloprovincialis*

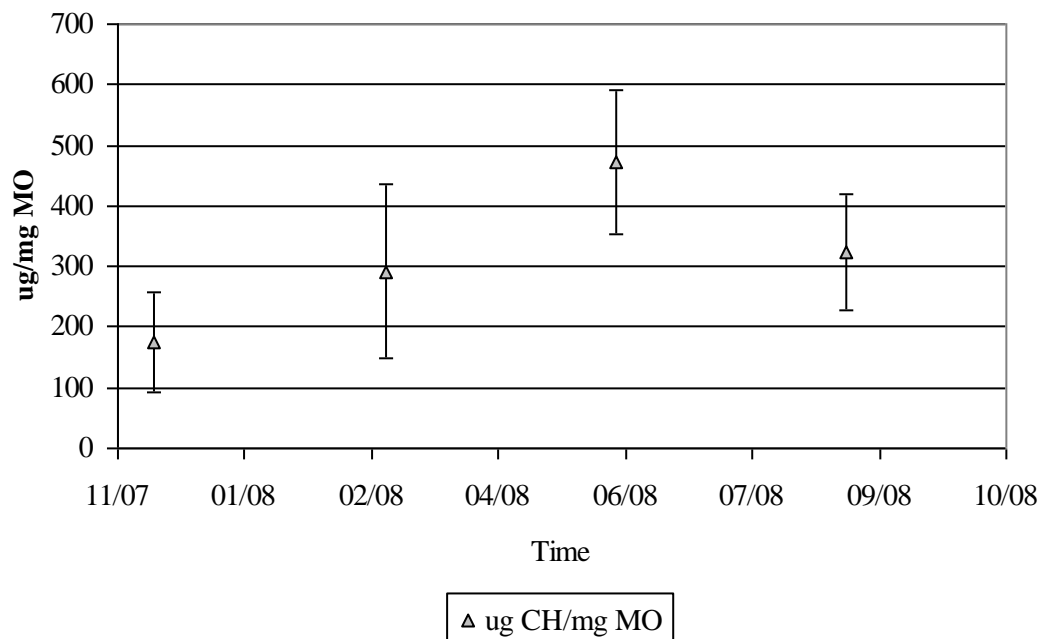


Figura 42: Variación del contenido en carbohidratos a lo largo del ciclo de cultivo



### Lipids - *M. galloprovincialis*

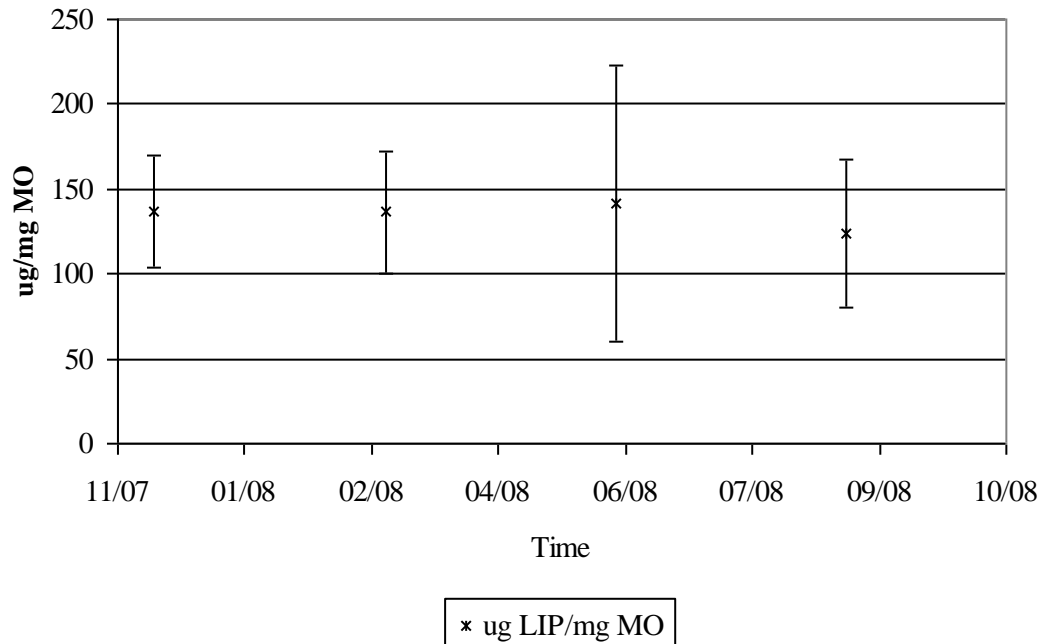


Figura 43: Variación del contenido en lípidos a lo largo del ciclo de cultivo

#### Clases de lípidos

En la Tabla VIII se muestran los datos correspondientes a las clases lipídicas analizadas en *M. galloprovincialis* a lo largo de ciclo de cultivo. Los datos están expresados en %LT (lípidos totales), mg.ind-1 (por individuo), y  $\mu\text{glip/mgMO}$  (referidos a materia orgánica). Las clases lipídicas mayoritarias son fosfolípidos, colesterol y triglicéridos (>20%LT). Los ésteres de esterol y las ceras apenas tienen una relevancia significativa. El contenido en ácidos grasos libres oscila entre el 23 y el 8.55% respecto a lípidos totales.

Tabla VIII: Composición en clases lipídicas de *Mytilus galloprovincialis* a lo largo del ciclo de cultivo.

Fecha		Noviembre 07	Febrero 08	Mayo 08	Agosto 08
MO mg.ind-1		301.37±51.32	596.40±218.76	1024.84±375.52	920.22±265.08
Fosfolípidos	%LT	26.03±4.96	20.79±3.47	18.43±4.41	25.49±4.47
	mg.ind-1	10.08±4.36	16.54±7.30	25.37±14.38	29.82±17.91
	µglip/mg MO	33.21±13.81	28.30±8.82	25.34±13.85	31.50±11.68
Colesterol	%LT	26.16±6.42	21.73±5.92	32.46±5.96	24.77±5.98
	mg.ind-1	10.22±4.67	17.25±8.04	46.01±28.51	30.46±23.01
	µglip/mg MO	33.90±15.45	29.13±9.09	44.32±20.51	31.39±16.14
Ácidos grasos libres	%LT	23.40±4.37	21.69±4.21	10.04±3.54	8.55±3.46
	mg.ind-1	8.59±4.11	16.62±7.75	14.22±9.51	9.81±6.03
	µglip/mg MO	28.11±13.43	28.89±11.51	13.74±7.27	10.70±5.86
Triglicéridos	%LT	24.03±7.64	36.29±7.84	38.05±11.00	22.09±17.58
	mg.ind-1	8.77±5.53	30.42±16.07	58.58±47.28	28.38±30.15
	µglip/mg MO	28.55±16.68	50.14±18.26	56.81±48.18	29.80±26.79
Ésteres de esteroil y ceras	%LT	2.31±4.26	0.11±0.33	1.02±2.56	3.51±7.25
	mg.ind-1	0.81±1.59	0.14±0.45	1.62±4.67	4.29±8.77
	µglip/mg MO	2.80±5.68	0.17±0.56	1.28±3.18	4.96±10.50

Las muestras fueron almacenadas en una cámara congeladora a -20°C. Durante el periodo de almacenamiento (noviembre de 2008-hasta agosto de 2009), la cámara sufrió diversas averías que ocasionaron bruscas subidas de temperatura, hasta llegar a alcanzar, en ocasiones, más de 2°C. La composición bioquímica de las muestras se ha podido ver afectada por esta posible descongelación. De hecho, en líneas generales y comprando con la bibliografía existente acerca de esta especie cultivada en otras zonas de la costa española (Freites et al., 2002; Peteiro et al., 2007), llama la atención el bajo contenido en carbohidratos. Asimismo, y en cuanto a las clases lipídicas, el contenido en ácidos grasos libres y colesterol (%LT) es demasiado elevado. En el caso de los ácidos grasos libres, en casi todos los muestreos se supera el 20%, indicativo claro de oxidación lipídica debida a una incorrecta conservación de las muestras. Estos hechos invalidan, en buena medida, las conclusiones que se puedan derivar de los resultados obtenidos. No obstante, presentamos las tablas correspondientes donde se detallan los resultados (Tabla IX, Tabla X, Tabla XI), y se realiza un resumen de las tendencias que parecen observarse.

Tabla IX: Variación del peso seco (Psc) y composición bioquímica general de de *M. galloprovincialis* a lo largo del ciclo de cultivo en la batea flotante en mar abierto (Les Cases) y en la bahía de Alfacs.

<i>M. galloprovincialis</i> -Les Cases	Fecha	Noviembre 08	Enero 09	Marzo 09	Mayo 09	Agosto 09
DW mg.ind-1		268.35±68.67	258.40±73.70	579.68±207.81	520.17±222.53	687.98±355.59
Carbohidratos	μglip/mg OM	23.86±20.15	16.32±8.23	33.61±23.59	32.72±14.23	17.37±7.46
Proteínas	μglip/mg OM	798.42±62.91	815.81±22.47	748±71.17	765.8±42.56	792.58±50.25
Lípidos	μglip/mg OM	177.73±68.30	167.87±21.90	218.39±58.91	201.48±39.74	190.05±50.03

<i>M. galloprovincialis</i> -Alfacs	Fecha	Enero 09	Marzo 09	Mayo 09
MO mg.ind-1		570.72±353.02	520.35±147.68	897.32±442.21
Carbohidratos	μglip/mg OM	54.63±32.81	32.81±18.34	74.00±28.10
Proteínas	μglip/mg OM	736.02±30.66	732.79±742.12	742.12±47.70
Lípidos	μglip/mg OM	209.35±33.48	234.40±33.81	183.88±28.63

Tabla X: Variación del contenido en clase lipídicas de *M. galloprovincialis* a lo largo del ciclo de cultivo en la batea flotante en mar abierto (Les Cases).

<i>M. galloprovincialis</i> -Les Cases	Fecha	Noviembre 08	Enero 09	Marzo 09	Mayo 09	Agosto 09
MO mg.ind-1		227.41±60.64	222.35±67.67	510.77±195.64	468.97±204.23	622.98±330.24
Fosfolípidos	%LT	36.12±9.27	30.43±7.22	28.66±7.50	23.37±7.29	23.10±4.90
	mg.ind-1	10.60±3.78	10.20±6.04	27.99±10.93	13.83±9.97	15.13±9.17
	μglip/mg LT	361.23±92.67	294.23±90.10	277.1±90.36	233.77±72.94	230.97±48.99
Colesterol	%LT	25.41±7.80	23.90±6.10	20.91±5.52	24.82±7.58	25.83±9.45
	mg.ind-1	7.59±3.46	7.80±4.28	20.78±9.21	14.31±9.99	16.70±9.89
	μglip/mg LT	254.1±78.04	231.00±74.12	202.17±66.34	248.17±75.79	258.3±94.52
Ácidos grasos libres	%LT	23.78±9.43	33.92±7.41	25.29±6.04	24.92±7.70	18.19±7.51
	mg.ind-1	6.88±3.24	11.18±6.78	25.36±11.42	13.79±7.97	11.33±5.82
	μglip/mg LT	237.83±94.32	327.87±95.61	244.47±75.19	249.2±77.03	181.87±75.07
Triglicéridos	%LT	14.78±20.14	11.8±9.87	24.22±13.52	25.99±15.43	32.71±13.88
	mg.ind-1	4.83±7.77	4.19±5.87	26.24±20.63	16.61±16.54	25.41±21.69
	μglip/mg LT	147.8±201.39	114.07±99.35	234.17±140.07	259.9±154.30	327.10±138.77
Ésteres de esteroil y ceras	%LT	-	-	-	-	-
	mg.ind-1	-	-	-	-	-
	μglip/mg LT	-	-	-	-	-

Tabla XI: Variación del contenido en clase lipídicas de *M. galloprovincialis* a lo largo del ciclo de cultivo en la batea flotante en mar abierto en la bahía de Alfacs

<i>M. galloprovincialis</i> -Alfacs	Fecha	Enero 09	Marzo 09	Mayo 09
MO mg.ind-1		501.24±311.42	460.86±132.5	814.53±415.21
Fosfolípidos	%LT	21.72±4.51	17.70±2.97	25.12±4.89
	mg.ind-1	12.21±3.57	10.51±2.98	16.72±9.08
	µglip/mg LT	217.20±45.12	177.00±29.66	242.55±66.92
Colesterol	%LT	13.61±2.64	14.06±2.66	17.37±4.18
	mg.ind-1	7.97±3.43	8.39±2.61	11.56±6.54
	µglip/mg LT	136.07±26.43	140.63±26.60	167.69±52.22
Ácidos grasos libres	%LT	32.37±4.71	31.95±6.56	24.98±5.47
	mg.ind-1	18.68±6.84	18.80±4.98	16.84±10.11
	µglip/mg LT	323.73±47.12	319.53±65.59	241.17±70.96
Triglicéridos	%LT	32.49±7.65	36.07±7.82	32.68±12.36
	mg.ind-1	19.43±8.70	21.93±8.54	24.62±20.30
	µglip/mg LT	324.87±76.52	360.73±78.20	315.52±135.73
Ésteres de esterol y ceras	%LT	-	-	-
	mg.ind-1	-	-	-
	µglip/mg LT	-	-	-

#### 2.4.2.4. Tarea 1.4: Valoración del estado inmunológico del mejillón

Los resultados de ROS se transformaron logarítmicamente para ajustarlos a una distribución normal mientras que los datos de fagocitosis no lo precisaron. Así, para hacer una comparación de medias entre temperaturas y tiempo, se empleó un MANOVA.

Los valores de producción de radicales de oxígeno son significativamente más bajos para los mejillones expuestos a 27°C respecto del control a lo largo de todos los periodos de tiempo analizados ( $p=0,0007$ ). Sin embargo no hay diferencias a lo largo del tiempo ( $p= 0,2262$ ) ni efecto de la interacción de ambos ( $p=0,1510$ ) (Figura 44).

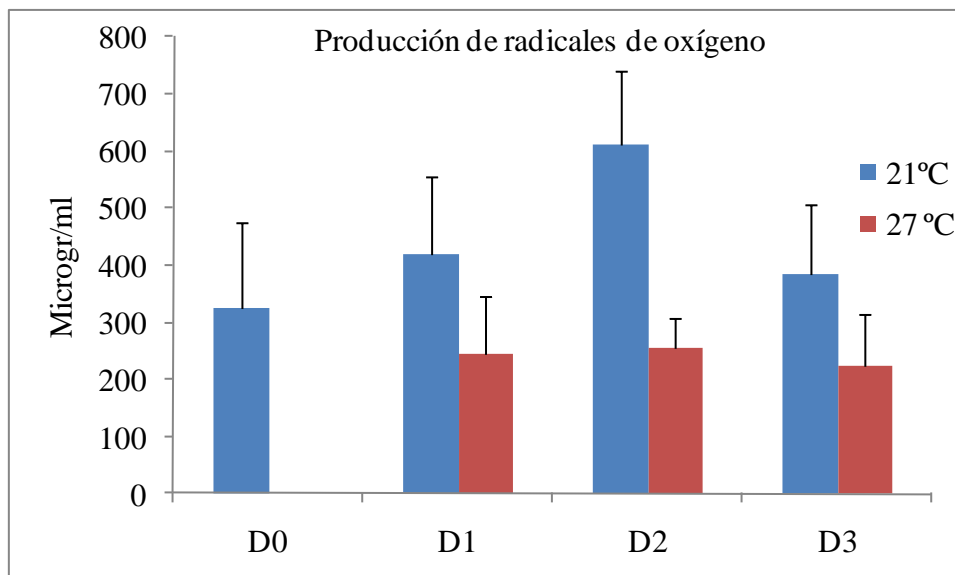


Figura 44. Producción de radicales de oxígeno en los mejillones expuestos a 27°C y a 21°C.

En el caso de la capacidad fagocítica, no se observan diferencias significativas entre las temperaturas ni entre los periodos de tiempo analizados (7 y 14 días). No se pudo calcular la capacidad de fagocitosis el último día (D3) por un error en el pipeteo de las muestras de hemolinfa (Figura 45).

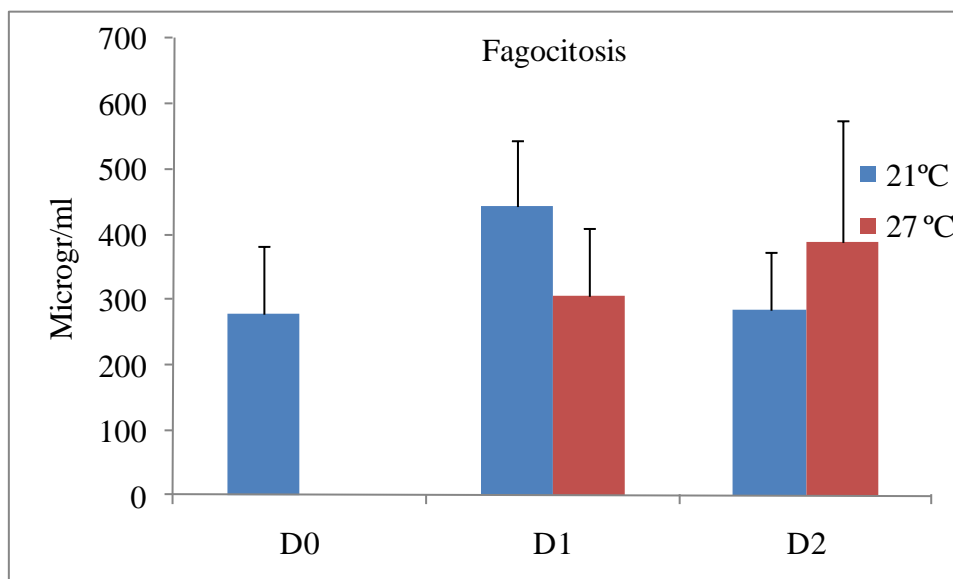


Figura 45. Capacidad fagocítica en los mejillones expuestos a 27°C y a 21°C.

En conclusión, ante un incremento rápido de  $T^a$  el sistema inmune de los mejillones estudiados respondió con una disminución en la producción de radicales de oxígeno, que se empezó a observar una semana después del aumento de  $T^a$ . En el periodo de recuperación (D3) todavía se observaron las diferencias entre tratamientos. En cambio, la fagocitosis parece no ser un parámetro relacionado con el incremento de  $T^a$  en el medio ya que no se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

#### 2.4.3. Línea 2: Estudio de la composición tóxica del mejillón

##### 2.4.3.1. Tarea 2.1: Desarrollo de metodologías cromatográficas, LC-FD, LC-MS-MS. Perfiles tóxicos.

##### Estudio del contenido de **toxinas amnésicas** (ASP) del mejillón

Los resultados de los análisis de los mejillones recogidos a lo largo del año se presentan en la Tabla XII. Véase que sólo en tres ocasiones (febrero, agosto y noviembre) se detectó DA en los mejillones, pero en cantidades inferiores al LOQ.

Tabla XII: Resultados de los análisis de DA y EA presentes en la carne del mejillón durante el 2008. n. d. = no detectable, cantidades inferiores al LOD; n. q. = no cuantificable, cantidades inferiores al LOQ.

Fecha de muestreo	mg DA por Kg de carne
30 enero 2008	n. d.
27 febrero 2008	n. q.
28 marzo 2008	n. d.
24 abril 2008	n. d.
29 mayo 2008	n. d.

26 junio 2008	n. d.
30 julio 2008	n. d.
19 agosto 2008	n. q.
24 septiembre 2008	n. d.
15 octubre 2008	n. d.
13 noviembre 2008	n. q.
12 diciembre 2008	n. d.

Estudio del contenido de **toxinas lipofílicas** presentes en muestras de moluscos (mejillón) y filtros de agua de mar.

Los resultados obtenidos en contenido de toxinas en moluscos se presentan a continuación en la Tabla XIII, en relación al contenido de toxinas en los filtros se presentan en la Tabla XIV.

Tabla XIII: Variación del contenido de toxina en moluscos (ug kg<sup>-1</sup>) según el mes de muestreo.

	SPX-1	PTX-2sa	OA	YTX
Batea_31.01.08	N.Q.	N.Q.	69 ± 6	55 ± 16
Batea_27.02.08			22 ± 2	51 ± 18
Batea_28.03.08	N.Q.		13 ± 1	70 ± 18
Batea_24.04.08				127 ± 17
Batea_29.05.08			11 ± 1	212 ± 15
Batea_26.06.08			28 ± 2	134 ± 31
Batea_30.07.08			N.Q.	N.Q.
Batea_06.08.08				167 ± 7
Batea_24.09.08				N.Q.
Batea_15.10.08				
Batea_13.11.08		N.Q.	33 ± 2	
Batea_12.12.08		N.Q.	N.Q.	

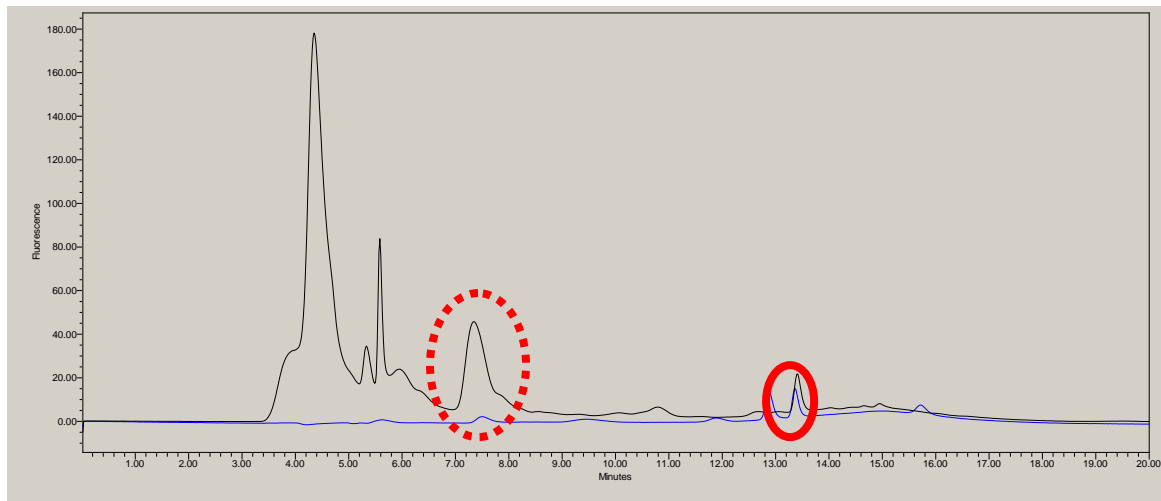
**DSP+**



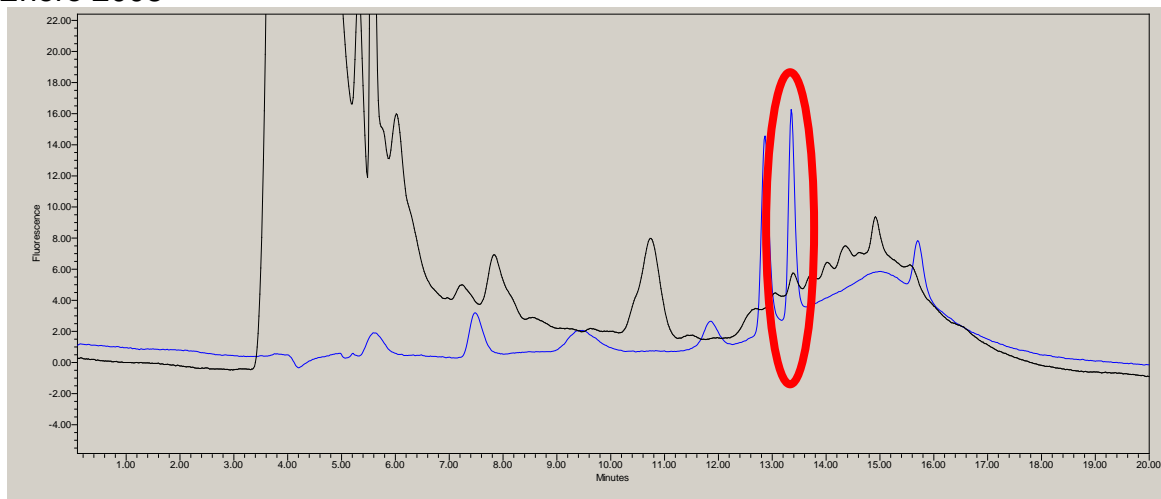
Tabla XIV: Variación del contenido de toxina en filtros (ng) según el mes de muestreo.

	PTX-2	OA	DTX-1
Filtro_16.01.08			
Filtro_27.02.08	1±0.2		
Filtro_13.03.08	N.Q.		
Filtro_10.04.08	N.Q.		
Filtro_14.05.08	N.Q.		
Filtro_11.06.08	8±0.1	1±0.2	
Filtro_15.07.08			
Filtro_19.08.08	N.Q.		<b>DSP+</b>
Filtro_10.09.08	N.Q.		N.Q.
Filtro_16.10.08	1±0.1		N.Q.
Filtro_20.11.08	4±0.4		N.Q.
Filtro_12.12.08	N.Q.		N.Q.

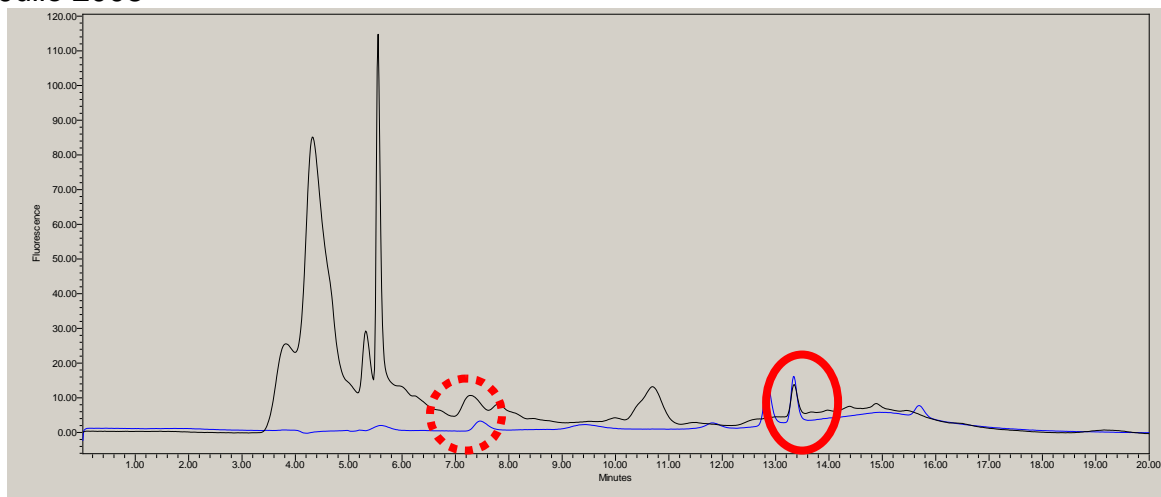
En relación a los resultados de los análisis de **toxinas tipo PSP** los siguientes cromatogramas son ejemplos de lo que se ha encontrado en las muestras. En resumen, se aprecian picos con el mismo tiempo de retención al de los estándares (círculos rojos continuos), pero se tendría que inyectar los purificados sin derivatizar para eliminar la posibilidad de que se traten de compuestos fluorescentes de la matriz, y hacer la segunda purificación y derivatización con periodato para estar más seguros. También se tiene previsto dopar algún extracto con el estándar para confirmar o descartar su identidad, sobretodo en el caso de los extractos derivatizados con peróxido donde se duda de que se trate de GTX2&3 (picos marcados en discontinuo). Los demás picos dudosos están marcados con círculos rojos en discontinuo (Figura 46 y Figura 47).



Enero 2008

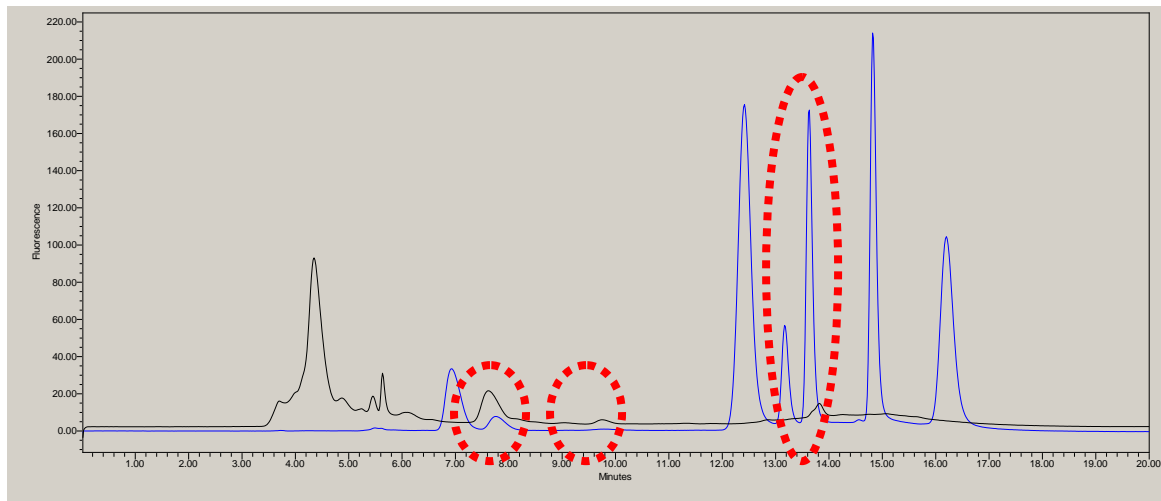


Julio 2008

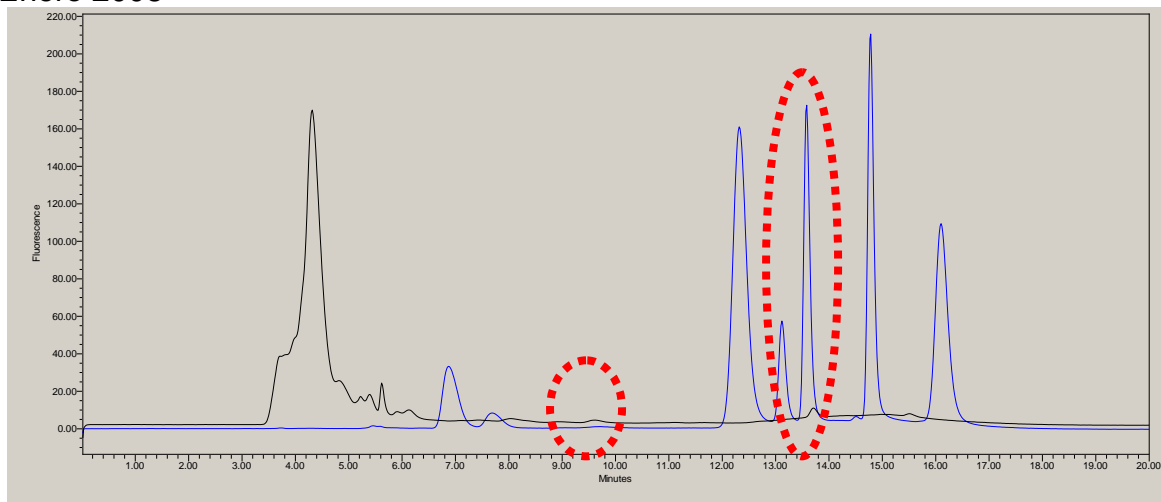


Enero 2009

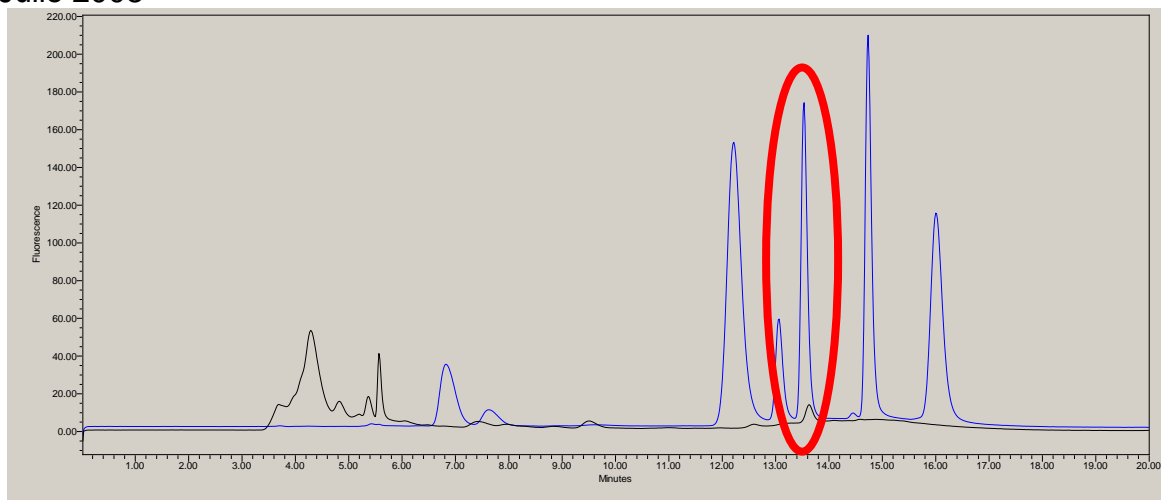
Figura 46: Derivatización con periodato del extracto de la primera purificación, 100  $\mu$ L inyección (cromatograma azul = estándar de toxinas paralizantes)



Enero 2008



Julio 2008



Enero 2009

Figura 47: Derivatización con periodato del extracto de la primera purificación, 25  $\mu$ L inyección (cromatograma azul = estándar de toxinas paralizantes)

#### 2.4.3.2. Tarea 2.2: Purificación de extractos HPLC, preparativa.

Mediante análisis LC-MS/MS se determinó que el 97% del ácido okadaico estaba en las fracciones 5 y 6, mientras que las yessotoxinas se obtuvieron en las fracciones 3 y 4.

#### 2.4.4.3. Tarea 2.3: Evaluación de la citotoxicidad de toxinas y extractos.

La matriz de mejillón es capaz de provocar per se cierta mortalidad celular. Se pretende establecer la concentración máxima de matriz que se puede analizar con un ensayo celular y que no provoque mortalidad. Para ello, se cuantifica la viabilidad celular en presencia de concentraciones crecientes de extractos de mejillón preparados con ácido acético. Consideramos que un 20% de la disminución de la viabilidad es significativo. Valores menores de este 20% se consideran dentro del error posible de la técnica (valor adjudicado arbitrariamente, en base a observaciones experimentales; se podría pensar en afinar más este valor, aunque obtener un valor cuantitativo sería complicado, debido a la naturaleza misma del modelo). Tras analizar varios extractos, se observa que la viabilidad se mantiene por encima del 80% hasta los 12,5 mg eq/mL (Figura 48). El análisis de otros extractos realizados posteriormente bajó ligeramente este límite a 6 mg eq/mL. Se considera que esta bajada se debió a una mejora en el proceso de extracción, que permitió obtener matrices con una mayor concentración; de todas formas, aunque esta explicación es plausible, no se basa en datos cuantitativos (medidas de peso seco de los extractos), y se tiene que seguir explorando (hasta este momento la concentración de matriz se ha calculado considerando el peso inicial de homogeneizado de molusco extraído y el volumen final de extracto obtenido). Podríamos considerar pues, que un límite de concentración de matriz de mejillón adecuado para trabajar sería 6 mg eq/mL. Este límite también sería coincidente con valores obtenidos un segundo operador (Figura 49).

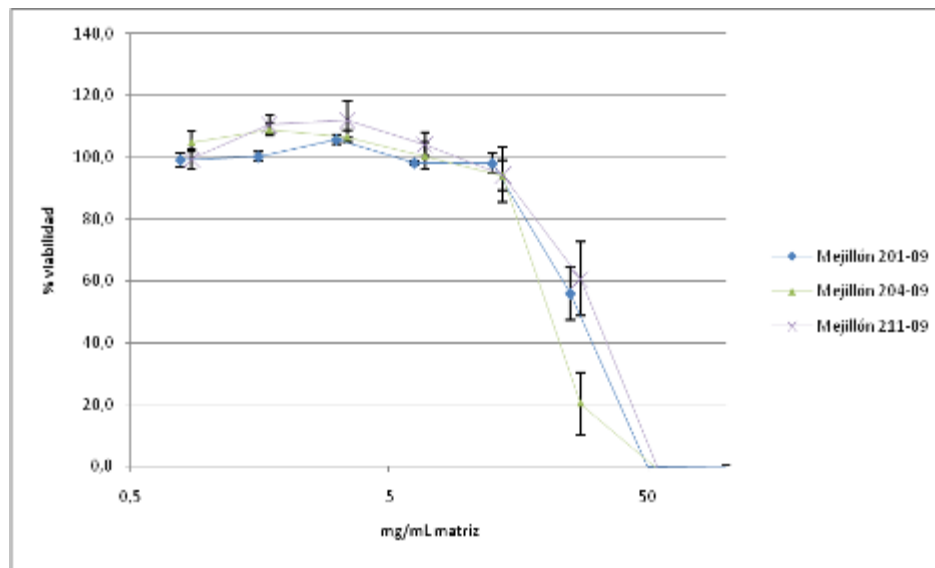


Figura 48: Estudio del efecto de la matriz de mejillón sobre el ensayo de citotoxicidad con células N2a

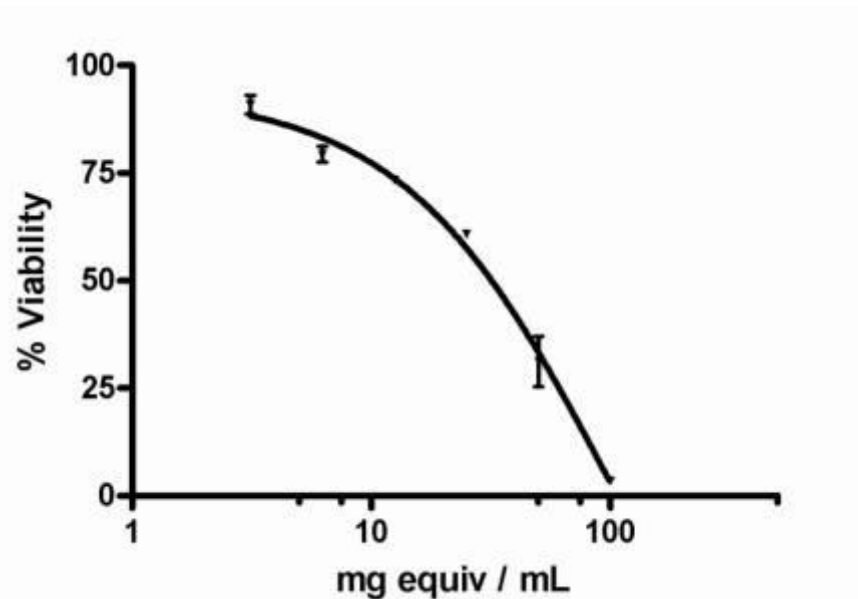


Figura 49: Estudio del efecto de la matriz de mejillón sobre el ensayo de citotoxicidad con células N2a.

Se quiso comprobar así mismo si:

- podía mejorarse la extracción con ácido acético para poder disminuir el efecto matriz.

- el protocolo utilizado era capaz de extraer la saxitoxina (STX), toxina a analizar.

A dos homogeneizados diferentes de mejillón, negativos para STX, se les añadió una cantidad fija del estándar de STX y se procedió a realizar el protocolo de extracción con ácido acético al 1%. Se realizaron los controles correspondientes sin STX. Así mismo, con estos extractos se realizó un paso adicional de

purificación por SPE a través de columnas C18 (con los correspondientes controles sin pasar por columna).

Como se observa en la Figura 50, el paso de los extractos a través de una columna C18 disminuye el efecto matriz, esto es, aumenta la concentración máxima de matriz que se puede cargar en un ensayo de citotoxicidad.

Los resultados de la Figura 51 parecen mostrar que el proceso de extracción de la STX a partir de muestras de molusco (sin purificación por columna C18) no siempre es efectivo: mientras en la muestra 204 se observa el aumento de viabilidad provocado por la STX, lo mismo no aparece en la muestra 211. Estos resultados, de todas formas, deben acabarse de interpretar observando la Figura 52. Se ve claramente como, tras el paso por columna C18, el efecto de la STX sobre la viabilidad celular es más fácilmente observable y cuantificable que sin esta purificación adicional. Se muestran sólo los resultados para el extracto 211, que son comparables a los obtenidos con el extracto 209.

Así, se puede resumir que la purificación de los extractos de mejillón por SPE a través de una columna C18 permite disminuir el efecto negativo de la matriz sobre la viabilidad celular y permite mejorar la detección de la STX presente en la muestra.

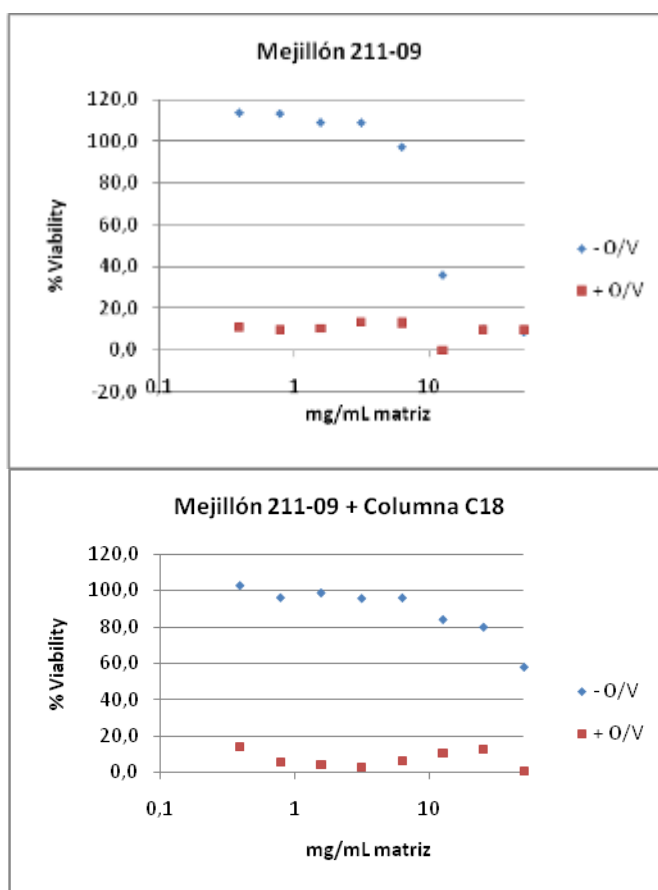


Figura 50: Influencia de la purificación con columna C18 sobre el efecto matriz de extractos de mejillón en el ensayo de citotoxicidad con células N2a. Se muestran los resultados de una misma extracción con o sin paso adicional por columna C18 (no hay STX presente en la muestra).

Límite de carga sin paso por columna= 6,125 mg/mL matriz  
 Límite de carga tras el paso por columna C18= 12,5 mg/mL matriz

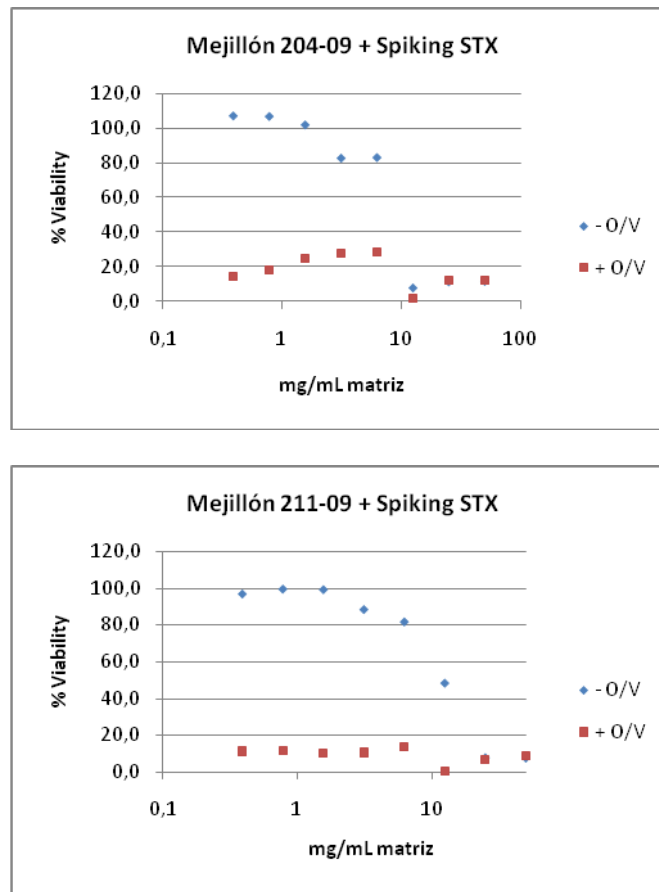


Figura 51: Efectividad del proceso de extracción (sin paso adicional por columna C18) para recuperar la STX añadida a los homogenados de mejillón. Se muestran los resultados de dos homogenados diferentes analizados con el ensayo de citotoxicidad con células N2a.

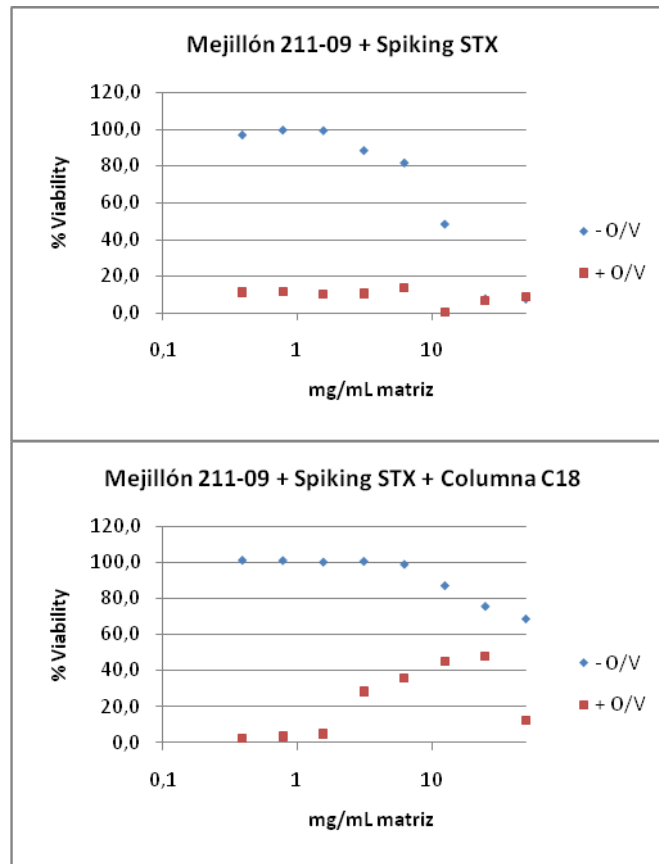


Figura 52: Influencia de la purificación con columna C18 sobre la visualización de la STX en el ensayo de citotoxicidad con células N2a. Se muestran resultados de un mismo extracto dopado con STX y posteriormente purificado o no purificado a través de columna C18.

En la Figura 53 se observa cómo los extractos metanólicos de mejillón son capaces per se de inhibir la PP2A. El fenómeno se repite para diferentes extractos de mejillón analizados, y se puede establecer un límite de carga de 4,5 mg/mL de extracto.

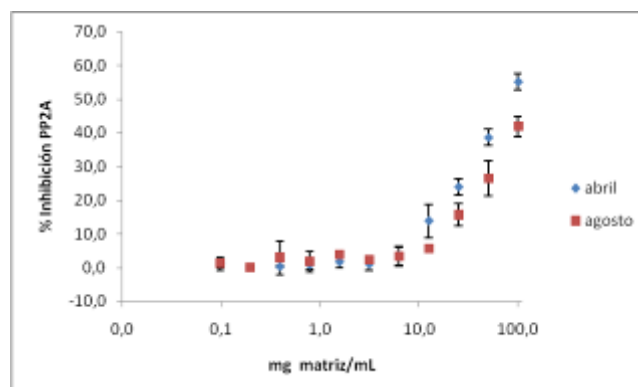


Figura 53: Análisis del efecto matriz de diferentes extractos metanólicos de mejillón.



En los siguientes ensayos se ha trabajado siempre a una concentración de 4,5 mg/mL de extracto de mejillón para evitar éste efecto inhibitorio.

Las curvas patrón con ácido okadaico suelen realizarse utilizando tampón Tris/EDTA/MgCl<sub>2</sub> como disolvente. Si queremos usar estas curvas para cuantificar muestras reales de extracto de mejillón es recomendable usar matrices sin contenido previo de toxina en lugar de tampón. Si comparamos las dos curvas obtenidas en estas dos condiciones experimentales descritas (tampón y matriz negativa) se puede apreciar que no son comparables (Figura 54). La matriz de mejillón desplaza la curva de calibrado de manera que se obtiene una sobrevaloración del contenido de toxina. Este efecto matriz se repite también para todos los extractos de mejillón testados.

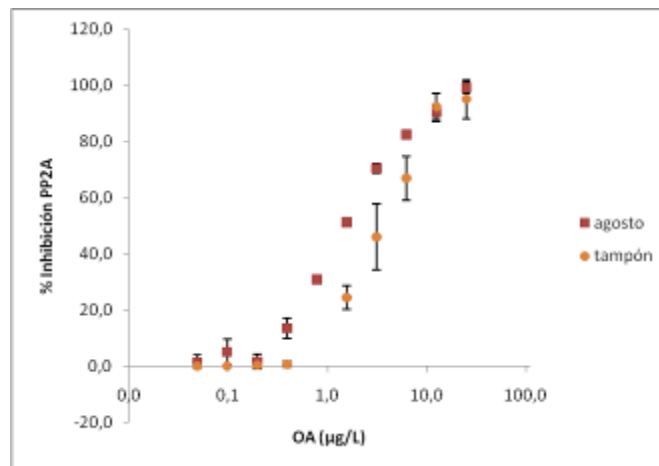


Figura 54: Efecto de la matriz de mejillón sobre la curva de calibrado del ácido okadaico.

Se han intentado averiguar los fenómenos responsables de este efecto matriz

Los siguientes factores se han testado con resultados negativos: variaciones de la fuerza iónica y utilización de inhibidores de proteasas. Se ha observado que una diálisis de los extractos disminuye el efecto matriz, lo que parece confirmar que es un compuesto presente en el extracto mejillón el que provoca dicho efecto, aunque se desconoce su naturaleza. Considerando que el añadir un paso de diálisis en la preparación de los extractos de mejillón supondría un aumento del tiempo y del coste del análisis, se está trabajando actualmente en la definición de un factor de corrección a aplicar a las curvas de calibración para poder proceder a la cuantificación de muestras reales.

#### 2.4.4. Línea 3: Detección y caracterización de las bacterias causantes potenciales de cuadros diarreicos en la especie humana

##### 2.4.4.1. Tarea 3.1: Detección y caracterización de bacterias potencialmente diarreicas.

Los resultados finales de los muestreos están resumidos en la Tabla XV.y Tabla XVI

Tabla XV: Resultados de los muestreos 2007-2008.

Muestra	heterofos totales	vibrios totales	<i>E. coli</i>	<i>Vibrios</i> diarréicos
invierno Cases 2008	$3.1 \pm 5.1 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	$2.7 \pm 4.5 \times 10^2$ UFC ml <sup>-1</sup>	130 /100g	No se detectó
verano Cases 2008	$6.9 \pm 9.7 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	$2.5 \pm 4.2 \times 10^2$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	1) aislado <i>V. parahaemolyticus</i> <i>tdh+</i> 2) aislado <i>V. parahaemolyticus</i> <i>tdh+</i> y <i>trh+</i>
invierno Alfacs inicio	$6.9 \pm 5.1 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	$2.2 \pm 2.5 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	20/100 g	1) aislado <i>V. parahaemolyticus</i> <i>trh+</i>
verano Alfacs inicio	$2.1 \pm 1.9 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	$1.6 \pm 2.9 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	1) aislado <i>V. parahaemolyticus</i> <i>tdh+</i>
invierno Alfacs medio	$6.0 \pm 6.2 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	$3.4 \pm 5.2 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	No se detectó
verano Alfacs medio	$2.7 \pm 4.9 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	$1.5 \pm 3 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	No se detectó
invierno Alfacs final	$9.4 \pm 5.7 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	$2.4 \pm 7.1 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	No se detectó
verano Alfacs final	$3.2 \pm 9.7 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	$1.6 \pm 3.2 \times 10^4$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	No se detectó

Tabla XVI: Resultados del análisis bacteriológico de *M. galloprovincialis* en la batea flotante en mar abierto (Les Cases) 2008-2009.

Muestra	heterofos totales	vibrios totales	<i>E. coli</i>	<i>Vibrios</i> diarréicos
invierno 2008	$3.1 \pm 5.1 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	$2.7 \pm 4.5 \times 10^2$ UFC ml <sup>-1</sup>	130 /100g	No se detectó
verano 2008	$6.9 \pm 9.7 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	$2.5 \pm 4.2 \times 10^2$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	1) aislado <i>V. parahaemolyticus</i> <i>tdh+</i> 2) aislado <i>V. parahaemolyticus</i> <i>tdh+</i> y <i>trh+</i>

invierno 2009	$5.5 \pm 3.2 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	$1.2 \pm 1.3 \times 10^3$ UFC ml <sup>-1</sup>	< 20/100 g	No se detectó
verano 2009	incontable	incontable	< 20/100 g	No se detectó

#### 2.4.4.2. Tarea 3.2: Aportar representantes de cada biotipo de *Vibrio* colectado a la CECT y la CAIM

Los aislados fueron enviados a las colecciones CAIM y CECT.

#### 2.4.5. Línea 4: Estudio de la situación parasitaria de los mejillones

##### 2.4.5.1. Tarea 4.1: Estudio histopatológico de la presencia de parásitos en los mejillones.

Se ha dado prioridad a la observación de los individuos procedentes de los muestreos de verano para poseer datos preliminares basados en los meses donde habitualmente se registran las prevalencias de parasitosis más elevadas, debido al incremento de temperaturas que normalmente favorecen la expansión de los parásitos, así como la susceptibilidad del molusco a su infección (incremento del stress fisiológico del individuo). Treinta individuos procedentes de los meses de Julio de 2008 (15 individuos) y Agosto de 2008 (15 individuos) han sido estudiados hasta el momento. Estas observaciones preliminares indican una apariencia sana de los tejidos de los mejillones, donde se observa acumulación de material de reserva energética en las células del tejido conjuntivo. En general no se ha observado presencia de parásitos en los individuos estudiados, sólo algunos casos aislados, dos individuos del mes de Julio con escasos (1 o 2) "clusters" bacterianos en branquia y un individuo del mismo mes parasitado por dos copépodos. Aún se tienen que identificar las especies tanto bacterianas como de copépodos. Cabe resaltar que no se ha observado presencia de *Marteilia refringens* ni de trematodos, dos de los principales parásitos de mejillones presentes en la zona del Delta del Ebro, en esta primera observación. La observación histológica del resto de los individuos muestreados durante el curso de esta investigación se está desarrollando actualmente.

Para valorar el status patológico de los mejillones cultivados en condiciones experimentales se realizó el estudio histológico de un total de 330 mejillones. En general los tejidos estudiados presentaban una apariencia sana, con acumulación de material de reserva energética en las células del tejido conjuntivo especialmente en los meses de primavera y verano (de mayo a septiembre). Se consideró importante tener en cuenta el diferente origen de la semilla en cada ciclo de cultivo a la hora de estudiar su patología porque se podría partir de status patológicos originales diferentes. El principal parásito observado fue *Marteilia refringens*. Se observó presencia este parásito en 6 de los 11 meses estudiados, en prevalencias comprendidas entre 3,34% y 33,34% (Tabla XVII). Cabe

destacar que el tamaño de muestra estudiado nos da un 98% de confianza en la detección de prevalencias superiores al 10%, con lo cual no se puede confirmar que las muestras negativas sean realmente negativas, ya que pueden existir prevalencias bajas de parasitación y no haberlo detectado debida al tamaño de la muestra. De todos modos la importancia de nuestro estudio patológico no es afirmar con certeza la ausencia o presencia de este patógeno, ya que se sabe que el patógeno está presente en esta zona del litoral, sino tener un panorama de la situación patológica de los mejillones experimentales. De este modo y en resumen, la prevalencia de *M. refringens* observada fue generalmente baja (de 3, 34%, un solo individuo parasitado de una muestra de 30), salvo en dos casos que alcanzó el 33, 34% (3 individuos parasitados/30 individuos). Es curioso destacar la relativamente elevada prevalencia de *M. refringens* (si comparamos con las otras muestras) observada en Enero de 2009, uno de los meses más fríos del año y en que normalmente y como está descrito en la literatura, las prevalencias de *Marteilia* suelen disminuir comparadas en otros meses más cálidos. Este fenómeno ya fue observado en estudios anteriores en la zona del Delta del Ebro (Carrasco et al., 2008) y necesitaría de más estudio para obtener más información sobre la dinámica y el ciclo de vida del parásito. Hay que comentar que de entre todos los positivos obtenidos en este estudio queda confirmar algún caso dudoso de parasitación pero este resultado no cambiaría el resultado panorámico global que nos muestra este estudio. En cuanto a la distribución en los tejidos y los estadios de *Marteilia* observados, el parásito se observó como es habitual en el epitelio de los túbulos hepatopancreáticos y del estómago del bivalvo, y los estadios observados fueron principalmente estadios jóvenes en las muestras de invierno (aunque también cohabitando con estadios maduros, en algunos casos), y fases más maduras del parásito en los meses más cálidos. Actualmente se está llevando a cabo el estudio de la intensidad de infección observada en las muestras positivas para complementar información. Cabe también resaltar, que no se ha observado presencia de trematodos, que junto con *Marteilia refringens* es uno de los principales parásitos de mejillones presentes en la zona del Delta del Ebro.

En cuanto a la presencia de otros patógenos, subrayar que en 8 de los 11 meses estudiados pudieron observarse en una gran parte de los mejillones estudiados “clusters” bacterianos en branquia (muchas veces muy grandes) de organismos Rickettsia-like o Clamidias. Colonias bacterianas de características similares han sido observadas recientemente también en otras especies de bivalvos de la zona. Por ese motivo, actualmente, se está llevando a cabo un estudio más detallado sobre las características epidemiológicas y la identificación molecular de estas bacterias patógenas de bivalvos. También fueron observados en algunos casos presencia de ciliados en el hepatopáncreas de los mejillones estudiados, así como algún Copépodo, y también Cnidarios y Turbelarios alrededor de las branquias. Cabe destacar también que en un caso (de la muestra de Mayo de 2008) se observó un caso de Hipertrofia Gametocítica Viral en la gónada del mejillón, pero este caso aún requiere confirmación.

Para completar el conocimiento patológico del mejillón en esta nueva técnica de cultivo se está llevando a cabo un estudio comparativo, con algunas muestras

simultáneas en el tiempo, de la patología del mejillón cultivado en el interior de las bahías del Delta del Ebro procedentes del proyecto GESAC (Gestión Sanitaria en Acuicultura. Adaptación a la nueva normativa, JACUMAR), aunque habrá que tener en cuenta el potencial diferente origen de la semilla. Con tal de completar la información también se utilizarán muestras del registro histopatológico del IRTA de otros años sobre patología de mejillón de las bahías del Delta del Ebro.

Tabla XVII. Prevalencia del patógeno *Marteilia refringens* en *Mytilus galloprovincialis* cultivado experimentalmente en bateas flotantes a mar abierto entre Julio de 2007 y Julio de 2009. Leyenda: Semilla 1, semilla experimental de captación natural en la batea experimental (entre julio y agosto de 2007); Semilla 2, semilla de captación natural procedente de las bahías del Delta del Ebro (entre noviembre de 2007 y Septiembre de 2008); Semilla 3, semilla de captación natural recolectada en la batea experimental (a partir de noviembre 2008); (-), no hay experimento; (X), no se recolectó muestra para estudio.

<i>MES</i>	<i>SEMILLA 1 (2007)</i>	<i>SEMILLA 2 (2007/2008)</i>	<i>SEMILLA 3 (2008/2009)</i>
<i>Noviembre</i>	-	0%	0%
<i>Enero</i>	-	X	33,34%
<i>Marzo</i>	-	X	3, 34%
<i>Mayo</i>	-	3,34%	0%
<i>Julio</i>	3,34%	0%	0%
<i>Septiembre</i>	3,34%	33,34%	-

## 2.5. CONCLUSIONES

Durante el episodio de elevadas temperaturas del verano del 2008, la temperatura del agua en la zona de aguas abiertas de Les Cases d'Alcanar donde se situó la batea experimental superó los 28°C 2 días antes que en la bahía de Alfacs y se mantuvo por encima de los 28°C durante 5 días más que en la bahía de Alfacs.

Durante los episodios de elevadas temperatura del verano los porcentajes de mortalidad observada durante este proyecto fueron muy inferiores a los registrados en la bahía de Alfacs. La mortalidad alcanzó un 30% en superficie, 11,5 % a 3 m y 9,4 % a 6 m de profundidad.

El rendimiento de los mejillones cultivados en aguas abiertas fue un 15% superior al cultivado en la bahía de Alfacs (en peso total) para el ciclo 2007-2008. En el ciclo 2008-2009 fue un 27% y 52% superior en los meses de mayo y julio respectivamente.

La captación de semilla en las cuerdas colectoras se produjo desde finales de diciembre hasta finales de febrero.

En el mes de junio las densidades de las especies de microalgas productoras de DSP, PSP y ASP superaron los niveles de alerta.

Se detectó DA en los mejillones en 3 ocasiones pero en cantidades inferiores al límite de cuantificación.

Se observa persistencia de toxinas lipofílicas en mejillón cultivado en prácticamente la totalidad de los meses en la zona exterior a las bahías del Delta del Ebro CAT1-01, para el periodo estudiado. Este hecho pone de manifiesto el riesgo que existe de acumulación de toxinas también en esta zona y por consiguiente la necesidad de efectuar los controles sanitarios pertinentes.

Los perfiles de toxinas lipofílicas presentes son similares a los encontrados típicamente en las bahías del Delta del Ebro, con predominancia de ácido okadaico (toxina diarreica) y pectenotoxina-2 secoácido (producida por metabolización de la pectenotoxina-2, producida por *Dynophysis* spp, en el propio mejillón) además de yessotoxina (producida por *P.reticulatum* y *L. polyedrum*).

Durante el periodo de estudio, los niveles de toxinas DSP total (incluyendo OA, DTX-1, DTX-2 y formas esterificadas de estos) pueden considerarse bajos sin haber tenido capacidad por si solos de generar un resultado positivo en MBA. (Nivel Máximo Permitido (NMP) para toxinas del grupo okadaico = 160 µg kg-1).

El potencial interferente de la yessotoxina en el control sanitario de moluscos mediante MBA se ha puesto de manifiesto en agosto de 2008 en la zona. Los valores por debajo del NMP de 1,0 mg YTX equivalente kg-1 pueden generar falsos positivos en MBA. Este hecho reitera la necesidad del uso de métodos

selectivos y/o de confirmación para el control sanitario y correcta gestión de las zonas de producción dado que de otra forma se estaría limitando la capacidad de producción de la zona.

La semejanza en cuanto a perfiles de toxinas encontrados en la zona exterior e interior de la bahía de Alfacs permite hipotetizar acerca de la influencia de las aguas de la bahía de Alfacs.

Las bajas o nulas cantidades de toxinas, sobre todo del grupo okadaico y yessotoxinas encontradas en filtros demuestran que esta estrategia no es lo suficientemente sensible y que es necesario realizar los controles directamente en el producto. Actualmente se está investigando sobre la posibilidad de utilizar dispositivos de adsorción pasiva como alternativa para al control en molusco y al análisis de filtros con el fin de evaluar su aplicación como herramientas de alerta temprana.

## 2.6. VALORACIÓN

El proyecto ha permitido demostrar la viabilidad del cultivo del mejillón en aguas abiertas en Cataluña. Esta posibilidad representa una alternativa teniendo en cuenta que las elevadas temperaturas que se registran en el verano en las bahías del delta del Ebro, en las que se concentra la producción de mejillón de Cataluña, son una limitación para este cultivo. A continuación se muestran algunas de las noticias aparecidas en la prensa en relación tanto a las nuevas instalaciones de engorde en aguas abiertas como a la instalación colocada para poder llevar la semilla a aguas exteriores durante los meses de verano.

## DIARI EL PUNT

# Els aqüicultors traslladaran 30.000 quilos de cria de musclo a una plataforma a mar obert

Han instal·lat una estructura flotant al costat de la de l'IRTA, a Alcanar

03/03/10 02:00 - LA RÀPITA - LURDES MORESO

Els productors de musclos del delta de l'Ebre traslladaran el pròxim mes d'abril 30.000 quilos de cria de musclo a una plataforma a mar obert per evitar nous episodis de mortalitat. Després que l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària (IRTA) hagi comprovat que la cria de musclo evoluciona favorablement fora de la badia, els aqüicultors han decidit apostar per aquesta solució i ja han enllestit les obres de l'estructura flotant, que ha suposat una inversió de 110.000 euros.

La plataforma dels aqüicultors s'ha instal·lat en una concessió del Departament d'Agricultura, just al costat d'on l'IRTA ha provat durant els darrers tres anys l'evolució de la cria de musclo a mar obert. «Aquesta campanya traslladarem 30.000 quilos de musclo, però l'objectiu és ampliar l'estructura flotant per poder-ne treure 100.000 l'any que ve», ha explicat el president de la Federació de Productors de Mol·luscos del Delta de l'Ebre, José Ramon Castells. La construcció d'aquesta estructura, que fa 800 metres quadrats, ha suposat una inversió de 110.000 euros, un 70% dels quals han estat finançats a través de fons europeus. Amb el trasllat de la cria de musclo fora de la badia els mesos d'estiu, els productors s'asseguren la producció ja que amb temperatures superiors als 28 graus centígrads a l'aigua les cries es moren, mentre que a mar obert no se superen els 26 graus. «El trasllat de la producció a mar obert ens permetrà millorar la qualitat i avançar la collita», ha dit Castells.

El director general de Pesca, Martí Sans, s'ha reunit els darrers dies (des de dijous passat fins ahir va ser al Delta) amb els aqüicultors. I en aquesta trobada s'ha marcat el *full de ruta* de les actuacions que han d'emprendre l'administració i el sector per millorar i ampliar la producció. Una d'aquestes és la necessitat de dragar la bocana d'accés a la badia del Fangar, per la qual cosa en les pròximes setmanes Sans i Castells es reuniran a Madrid amb el secretari general de Mar. «Reclamarem que es faci una prova pilot d'extracció de sorra del Fangar», ha manifestat el president de la Federació de Productors.



Una musclera a la badia dels Alfacs. Foto: L.M.

Notícies de ...

[Alcanar](#) [Sant Carles de la Ràpita](#) [Deltebre](#)



## DIARI EL PUNT

### Economia

#### PESCA

### Una empresa aquícola del Delta amplia la producció de musclos a mar obert

Instal·la el primer viver flotant de Catalunya davant les Cases d'Alcanar i calcula que l'estiu que ve produirà 90.000 quilos de musclos

12/11/10 02:00 - LES CASES D'ALCANAR - LURDES MORESO

La producció de musclos al delta de l'Ebre es concentra a les dues badies, on els mol·luscos creixen per la riquesa del fitoplàncton i la qualitat de l'aigua, però a l'estiu pateixen, sobretot les cries, per l'elevada temperatura de l'aigua. I per evitar aquesta problemàtica, l'empresa Cademar ha optat per produir musclos a mar obert, just davant de les Cases d'Alcanar. "L'explotació és just a l'entrada de la badia dels Alfacs i la riquesa de l'aigua podem dir que és la mateixa", ha explicat el responsable de Pesca a les Terres de l'Ebre, Jesús Gómez. De fet, la concessió de Cademar és al costat d'una plataforma de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària (IRTA), on durant els darrers anys s'ha comprovat el creixement de les cries de musclo a mar obert.

Concretament, l'empresa aquícola té tres *long-lines* o vivers flotants, de 600 metres de llargada, fixats pels extrems amb un bloc de formigó de 7.000 quilos de pes. "Fa tres anys que vam aconseguir la concessió i un any que vam col·locar les primeres cries a les cordes", ha manifestat Miquel Carles, portaveu de l'empresa familiar. Així, no serà fins l'estiu que ve que tindrà producció de musclos, ja que el creixement de les cries és d'uns divuit mesos. Es calcula que la producció serà de 90.000 quilos de musclos.

#### Depredadors

Tot i que fa una dècada hi havia més explotacions de mol·luscos a mar obert, actualment la de Cademar és l'única del país i, segons els promotors, és l'únic viver flotant en superfície a tot l'Estat. La principal problemàtica d'aquest tipus d'explotacions són els depredadors i els temporals. "Les dorades se'ns mengen la cria de musclo, encara que la protegim", ha lamentat Carles. Un problema que no té tanta repercussió a les badies dels Alfacs i el Fangar, on la fondària no supera els 2 metres, mentre que al punt on Cademar té la concessió hi ha 10 metres de profunditat. Per contra, s'eviten els episodis de mortalitat que afecten els musclos de les badies, ja que amb més de 28 graus centígrads la cria de musclo penlla.

Per evitar aquests episodis de mortalitat, la Federació de Productors de Mol·luscos del Delta de l'Ebre ha posat en marxa una plataforma a mar obert on es traslladen les cries a l'estiu. Aquesta plataforma, però, el darrer temporal la va fer malbé. Amb tot, aquest estiu no hi ha hagut episodis de mortalitat de musclos i la producció ha estat rècord, segons el president de la Federació de Productors de Mol·luscos del Delta de l'Ebre, José Ramón Castells. S'han produït 3,5 milions de quilos de musclos, amb una facturació de 4,2 milions d'euros.



Miquel Carles mostra els musclos que produeix a mar obert. Foto: L.M.

Notícies de ...  
[Alcanar](#)

#### LA XIFRA

# 3,5

#### milions de quilos

és la producció de musclos del delta de l'Ebre del darrer any, una producció rècord.

DIARI DE TARRAGONA

## Els aqüicultors instal·len la primera plataforma flotant en mar oberta

**A partir del mes de maig els aqüicultors del Delta de l'Ebre engreixaran les cries de musclos en mar oberta. La Federació de Productors de Mol·luscos dels Delta de l'Ebre (Fepromodel) ha acabat la instal·lació d'una plataforma flotant mar endins a uns quatre quilòmetres de la costa de les Cases d'Alcanar**

Joan Josep Carot | 17/01/2010 20:40



Imatge de les muscleres que el sector aqüícola del Delta té a la badia dels Alfacs . - PERE FERRÉ

Aquesta plataforma flotant es tracta d'una estructura de polietilè de 800 metres quadrats ubicada en una concessió de la Generalitat on també es troba una altra de similar que, amb caràcter experimental, va construir l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària (IRTA). Precisament aquest assaig que va encarregar el Departament d'Agricultura, alimentació i Acció Rural (DAR) a l'IRTA per conèixer el comportament de les cries de musclo en mar oberta durant els mesos d'estiu va resultar satisfactori.

L'objectiu dels musclaires és evitar els elevats percentatges de mortalitat en les cries que provoquen les elevades temperatures que registra a l'estiu l'aigua a l'interior de la badia dels Alfacs, uns episodis que s'han anat repetint els darrers estius provocant importants pèrdues en un sector econòmic que s'ha consolidat al Delta de l'Ebre i que arriba a produir anualment tres milions de quilos de musclos, segons explica el president de Fepromodel, José Ramón Castells.

En l'interior d'aquesta badia es troben les plataformes d'engreix de musclos i ostres. Es tracta d'unes construccions de fusta subjectades en el sòl marí aprofitant les zones menys profundes de la badia, situades a l'extrem sud del delta. En aquesta zona els problemes derivats de la qualitat de l'aigua també sorgeixen en alguns períodes de

## 2.7. DIFUSIÓN

- Artículo en la revista IPAC acuicultura (Septiembre 2007), Artículo en la revista Pesca Mar (Marzo 2008) del Departament d'Agricultura de la Generalitat de Catalunya, Artículo en la revista electrónica del IEO (Febrero 2008), Comunicado de prensa en la web de la Generalitat, 1 Jornada Técnica, 1 Reunión con los productores de mejillón, Noticias en los periódicos, 2 comunicaciones orales, 2 pósters
- **Tipo de soporte:** archivos pdf
- **Medio de difusión:** Revistas, Periódicos, Congreso Nacional de Acuicultura, XV Jornades Tècniques Expo-Ràpita – II Congrés d'Aqüicultura Mediterrània – II Simposi d'Aqüicultura de Catalunya.
- **Lugar y fecha de las acciones de divulgación:**

Se adjunta el link con el comunicado de prensa aparecido a la web de la Generalitat el 28/8/2007 y otras noticias relacionadas:

[http://premsa.gencat.net/display\\_release.html?id=26863](http://premsa.gencat.net/display_release.html?id=26863)

[http://www.irta.es/NOTICIES/01\\_711143\\_NO\\_CAT.PDF](http://www.irta.es/NOTICIES/01_711143_NO_CAT.PDF)

[http://www.irta.cat/PREMSA/01\\_711121\\_ART.PDF](http://www.irta.cat/PREMSA/01_711121_ART.PDF)

IPac “El IRTA prueba la cría de mejillón en mar abierto”. ipac. Acuicultura Septiembre 2007

IEO “IRTA e IEO estudian el cultivo del mejillón em mar abierto” Revista electrónica ieo, Febrero 2008.

Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural “La cria del musclo a mar obert” Revista PescaMar Marzo 2008

Jornada Técnica sobre las actividades del IRTA en Sant Carles de la Ràpita, dirigida a los productores y medios de comunicación y realizada en el propio dentro el 14/2/2008. Presentación a cargo de M. Ramón: Cultivo de mejillón en mar abierto.

Reunión con los productores de mejillón del delta del Ebro (21/10/2008) en la Cofradía de pescadores de Sant Carles de la Ràpita para presentar los resultados del proyecto Jacumar. Presentación a cargo de M. Ramón y M. Fernández. Se hace entrega de un dossier titulado “CULTIVO DEL MEJILLÓN DENTRO Y FUERA DE LAS BAHÍAS DEL DELTA DEL EBRO” a los asistentes, donde se resumen los resultados mas relevantes obtenidos en los diversos proyectos realizados en la zona.

XII Congreso Nacional de Acuicultura, celebrado en Madrid entre el 24 y 26 de noviembre de 2009

XV Jornades Tècniques Expo-Ràpita – II Congr s d’Aqüicultura Mediterrània – II Simposi d’Aqüicultura de Catalunya, celebrado en Sant Carles de la Ràpita, en octubre de 200

- **Nombre y datos de contacto:** Margarita Fernández Tejedor Tfno 977745427, [margarita.fernandez@irta.cat](mailto:margarita.fernandez@irta.cat), Dolors Furones Nozal. Tfno. 977745427, [dolors.furones@irta.cat](mailto:dolors.furones@irta.cat)
- **Documentos digitales adjuntos:** Las presentaciones fueron elaboradas en formato Powerpoint, adjuntándose el resumen en formato pdf.
- Listado:

AUTORES: Montserrat Ramón, Margarita Fernández, Eve Galimany, Esther D maso

TÍTULO: CULTIVO DEL MEJILLÓN DENTRO Y FUERA DE LAS BAHÍAS DEL DELTA DEL EBRO

TIPO DE PARTICIPACIÓN: oral

REUNIÓN CON LOS PRODUCTORES

PUBLICACIÓN: dossier repartido a los productores

AUTORES: Ramón, M., E. D maso y E. Galimany

TITULO: Pautas de crecimiento y mortalidad del mejillón cultivado en mar abierto en el delta del Ebro

TIPO DE PARTICIPACION: oral

CONGRESO: XII Congreso Nacional Acuicultura

PUBLICACION: Libro de resúmenes, 404-405.

AUTORES: Galimany, E., Ramón, M. y M. Delgado

TITULO: Preferencias alimentarias de *Mytilus galloprovincialis*  
TIPO DE PARTICIPACION: oral  
CONGRESO: XII Congreso Nacional Acuicultura  
PUBLICACION: Libro de resúmenes, 32-33.

AUTORES: M. Fernández-Tejedor, E. Dámaso, G. Giménez P. de la Iglesia, M. Campàs, J. Diogène y M. Ramón  
TITULO: Cultivo de mejillón en mar abierto mediante artefactos flotantes. Parámetros ambientales, fitoplancton tóxico y biotoxinas.  
TIPO DE PARTICIPACION: poster  
PUBLICACION: Libro de resúmenes, 648-649.

AUTORES: Ramón, M.; Dàmaso, E.; Galimany, E.  
TITULO: Creixement i mortalitat del musclo cultivat en batea surant a l'exterior de les badies del Delta de l'Ebre.  
TIPO DE PARTICIPACION: poster  
PUBLICACION: Libro de resúmenes del Simposi

## 2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

La valoración del estado inmunológico del mejillón prevista para el 2008 se realizó en el 2009. Los trasplantes de mejillón desde la bahía de Alfacs hasta la batea en aguas abiertas se realizó en 2009 pero las cuerdas de este experimento fueron cortadas y robadas, perdiéndose así la muestra e imposibilitando la realización del experimento.

## 2.9. BIBLIOGRAFÍA

- Bradford, M.M. 1976. Anal. Biochem. 72: 248-254.  
Folch et al. 1957. J. Biol. Chem. 226-497.  
Galimany et al. 2005. X Congreso Nacional de Acuicultura, Gandía  
Lowry, O.H. et al. 1951. J. Biol. Chem. 193: 265-275.  
Olsen y Henderson, 1989. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 129(2): 189-197.



**CIUDAD DE CEUTA**

**JACUMAR**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

**INFORME FINAL**

**Título:**

***“Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad”.***

**CULMITES**

**Subproyecto Ciudad de Ceuta:**

***“Determinación de las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en Ceuta”***

## **RESUMEN EJECUTIVO**

### **1.- DATOS ADMINISTRATIVOS**

**TITULO:** Subproyecto Ciudad de Ceuta: “Determinación de las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en Ceuta”.

### **FECHAS DE REALIZACIÓN**

Inicio: 26/06/08

Finalización: 16/07/10

### **PRESUPUESTO TOTAL EN EUROS**

91,121.00 €

### **DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO**

Nombre y Apellidos: Francisco Javier Martínez Medina

Organismo/ Centro: OBIMASA

Teléfono: 956520104

Fax: 956520103

Correo electrónico: [fjmartinez@ceuta.es](mailto:fjmartinez@ceuta.es) Dirección postal completa: Carretera Benzú-García Aldave s/n 51003 Ceuta

### **2.- RESULTADOS TECNICOS**

#### **2.1. OBJETIVOS**

Considerando el interés suscitado por el cultivo de mejillón en Ceuta y la poca experiencia para desarrollarlo bajo las condiciones propias de su litoral, en el momento de la presentación del proyecto resultaba especialmente necesario realizar un seguimiento técnico de las diversas opciones disponibles de forma que pueda optimizarse la toma de decisiones, tanto a nivel administrativo como empresarial, analizando la viabilidad de esta actividad.

El objetivo general planteado fue obtener información básica que permita establecer las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en las aguas de la Ciudad de Ceuta y determinar la viabilidad técnica y económica del mismo.

Como objetivos específicos se plantearon los siguientes:



1. Mejorar el conocimiento de la problemática del cultivo de mejillón en Ceuta, particularmente con respecto a crecimiento, ciclo reproductor, condiciones de cultivo y factores de pérdida del producto.
2. Generar información sobre las condiciones higiénico-sanitarias de la zona de implantación de la actividad.
3. Determinar la presencia de semilla de mejillón a lo largo del litoral y evaluar su potencialidad para abastecer la demanda de los proyectos a nivel industrial.
4. Evaluar los posibles impactos de la recolección de semilla sobre las comunidades biológicas.

Durante el desarrollo de proyecto se han tomado muestras de mejillón cultivado en las bateas con el fin de controlar determinadas enfermedades en dichos ejemplares, sin que ello estuviera contemplado inicialmente.

### 2.3. METODOLOGÍA

El seguimiento se ha realizado en las instalaciones implantadas en la propuesta de Zona de Producción de Moluscos CE-02 de la Bahía Sur de Ceuta, diferenciándose tres lotes de mejillón cultivado: mejillones adultos (talla media inicial de 65 mm), mejilla 1 (talla media inicial de 45 mm) y mejilla 2 (talla media inicial de 25 mm).

Periódicamente se han extraído dos réplicas por lote de 40 ejemplares cada una. En cada ejemplar, se ha determinado el peso total, el peso de las valvas, el peso fresco de la carne, la longitud máxima de la concha y el índice gonadal observado macroscópicamente de la totalidad de ejemplares. Además, durante su manipulación se ha realizado un examen visual tanto externo como interno, para detectar posibles malformaciones, organismos asociados o cualquier otra circunstancia de interés. En el caso de presencia significativa de epibiontes, se ha medido el peso total y el peso del mejillón una vez desprendida la carga de epibiontes.

Se han medido diversas variables ambientales y se han tomado muestras de agua y mejillón para un seguimiento higiénico-sanitario de la Zona de Producción de Moluscos.

Paralelamente y sin estar contemplado anteriormente en el proyecto, se han tomado muestras de mejillón cultivado en las bateas con el fin de controlar determinadas enfermedades en dichos ejemplares. Las muestras de 30 ejemplares de *Mytilus galloprovincialis*, se envían desde el Servicio de Sanidad Animal al Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades de Moluscos Bivalvos en Vigo. Mediante análisis histológico se detecta la presencia de distintos patógenos, parásitos y bacterias fundamentalmente.

Además, se han realizado transectos durante la bajamar a lo largo del intermareal de los substratos rocosos del litoral de Ceuta para efectuar un censo completo de los bancos naturales de mejillón, determinando su distribución y abundancia, así como las características generales de las comunidades biológicas del lugar, con especial atención a la presencia de especies protegidas. Se ha estimado el tamaño de los bancos hallados según su morfología, obteniéndose la longitud y/o superficie de los asentamientos.

## 2.4. RESULTADOS

En cuanto al crecimiento del mejillón cultivado, puede observarse como los diversos parámetros considerados (pesos y longitud) experimentan un notable incremento durante el primer trimestre en los dos lotes de mejilla, especialmente en la de menor talla inicial (de unos 25 mm), reduciéndose las diferencias en las tallas iniciales. Posteriormente, el incremento en el crecimiento y el engorde se reduce de magnitud. En el lote de mejillones adultos, con una talla inicial ya considerable, se detecta un incremento moderado en talla y masa pero sostenido.

Las mayores tasas de crecimiento se han obtenido entre julio y septiembre alcanzando un valor máximo de 11,3 mm/mes. El valor promedio ha sido de 3,86mm/mes. En 10 meses el lote mejilla 1 ha alcanzado una talla comercial superior a 70mm.

Los valores del rendimiento en carne sobrepasan el 40% al alcanzar el undécimo mes de cultivo, entre los meses de junio y octubre, con un máximo del 42,4% en septiembre tras trece meses de cultivo. A partir de este momento parece apreciarse un descenso.

En los resultados del análisis microbiológico y de biotoxinas en la muestra de mejillón se ha detectado presencia de *Salmonella sp.* en una sola ocasión correspondiente al 27 de octubre de 2009. Los valores del recuento de *E. coli* se encuentran en un 58% de las muestras dentro de los límites establecidos por la normativa vigente para clasificar la zona como de tipo B, y en un 26% de las muestras corresponderían a una zona tipo A.

La presencia de biotoxinas en los muestreos realizados dieron en general como resultados valores inferiores a los límites legales establecidos, sin que se hayan detectado episodios importantes. Sin embargo, cabe reseñar dos excepciones en las que se han rebasado los límites legales establecidos, una para las toxinas amnésicas en marzo de 2009 y otra para las toxinas paralizantes en septiembre de 2009.

Los valores de concentración de metales y de compuestos organohalogenados no son destacables, estando por debajo de los límites recogidos en la normativa vigente. En cuanto a los radionúclidos, todos los valores pueden considerarse como normales, con la excepción del Polonio 210 y el



Plomo 210, los cuales a pesar de ser considerados como radionúclidos naturales, presentan una actividad relativamente elevada.

En cuanto al censo completo del litoral de Ceuta, ha permitido determinar la situación inicial de partida de los bancos naturales de mejillón. Se ha obtenido una cartografía a escala 1:5000 con su localización, distribución y abundancia. Generalmente ha aparecido en pequeños grupos aislados instalados en grietas y fisuras, con moderada ocurrencia de bancos dispersos de entre 30 y 240 cm de longitud. No se han registrado franjas continuas a lo largo del intermareal. Ocupa tanto substratos naturales como artificiales. En cuanto a la talla, el 90% de los ejemplares medidos no superaban los 30 mm de longitud total. Se ha constatado que la especie protegida *Patella ferruginea*, catalogada como “En Peligro de Extinción”, aparece de forma significativa en todo el ámbito estudiado, compartiendo hábitat con el mejillón. Asimismo, se ha detectado la presencia de la especie de mejillón *Perna picta*, previamente no conocida en la zona de estudio, en sintopía con el mejillón *Mytilus galloprovincialis*.

Los censos realizados con posterioridad al inicio del cultivo no han puesto de manifiesto una colonización del litoral con larvas procedentes de las bateas, ni se han apreciado cambios significativos en la presencia y abundancia del mejillón en la costa. Estos datos sugieren que el banco natural de mejillón no puede considerarse una fuente viable de abastecimiento de semilla a escala productiva.

## 2.5. CONCLUSIONES/APLICABILIDAD DE LOS RESULTADOS DEL PLAN

Las principales conclusiones alcanzadas son las siguientes:

- En cuanto al crecimiento del mejillón cultivado, los parámetros considerados (pesos y longitud) experimentan un notable incremento durante el primer trimestre. Posteriormente, el incremento es moderado pero sostenido.
- Las mayores tasas de crecimiento se han obtenido entre julio y septiembre alcanzando un valor máximo de 11,3 mm/mes. El valor promedio ha sido de 3,86mm/mes. En 10 meses el lote mejilla 1 ha alcanzado una talla comercial superior a 70mm.
- Los valores del rendimiento en carne sobrepasan el 40% al alcanzar el undécimo mes de cultivo, entre los meses de junio y octubre, con un máximo del 42,4% en septiembre tras trece meses de cultivo. A partir de este momento parece apreciarse un descenso.
- En relación con los resultados del análisis microbiológico, se ha detectado presencia de *Salmonella sp.* en una sola ocasión. Los valores del recuento de *E. coli* se encuentran en un 58% de las muestras dentro de los límites establecidos por la normativa vigente para clasificar la zona como de tipo B, y en un 26% de las muestras corresponderían a una zona tipo A.



- La presencia de biotoxinas en los muestreos realizados dieron en general como resultados valores inferiores a los límites legales establecidos, con tan sólo dos excepciones: una para toxinas amnésicas y otra para toxinas paralizantes.
- Los valores de concentración de metales y de compuestos órgano-halogenados no son destacables, estando por debajo de los límites recogidos en la normativa vigente.
- Los datos sugieren que el banco natural de mejillón no puede considerarse una fuente viable de abastecimiento de semilla a escala productiva.

En consecuencia, tanto los datos de engorde y crecimiento como las condiciones higiénico-sanitarias de la zona pueden ser considerados como elementos positivos en la viabilidad de esta actividad. Por el contrario, un factor limitante podría ser el abastecimiento de semilla, que o bien debería ser exportada de otras regiones o captada en las propias instalaciones.

## 2.6. DIFUSIÓN

En el ámbito científico, la difusión de los resultados del subproyecto se ha realizado mediante la participación en el XII Congreso Nacional de Acuicultura (noviembre 2009), en el que se presentó una comunicación en formato póster.

Ante la opinión pública se han realizado diversas intervenciones en los medios de comunicación, destacando las noticias y reportajes aparecidos en prensa escrita.

El sector, conformado por un solo promotor, ha sido informado directamente a través de un dossier abreviado con los principales resultados.

En todos los casos se mencionaba que la financiación del subproyecto se realiza en el marco de los Planes Nacionales de Cultivos Marinos promovidos por JACUMAR.

## 2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

El subproyecto correspondiente a la Ciudad de Ceuta fue una incorporación en 2008 a un proyecto ya en ejecución, el Plan Nacional de Cultivos Marinos denominado "Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad", iniciado en 2007.

La propuesta de incorporación de Ceuta fue inicialmente aceptada en la 62ª reunión de la JACUMAR celebrada el 8 de mayo de 2007. Tras la elaboración de la documentación y la evaluación de la misma, fue finalmente aprobada el 11 de diciembre de 2007 en la 63ª reunión de JACUMAR, con un presupuesto



Ciudad de Ceuta



---

total de 91.121 euros, correspondiendo 40.000 euros al ejercicio de 2008 y 51.121 al de 2009.

Tras la comunicación formal de la aprobación de esta incorporación, realizada mediante escrito de fecha 19 de diciembre de 2007 del Subdirector General de Gestión de los Fondos Estructurales y Acuicultura, se iniciaron las gestiones necesarias para la puesta en marcha del subproyecto.

La base fundamental de éste es la provisión de una plaza de personal técnico con el 75% de dedicación, encargado de realizar el grueso de las actividades previstas, aspecto al que va destinado la mayor parte del presupuesto asignado.

Es el 13 de mayo de 2008 cuando se hace pública la correspondiente convocatoria de empleo (Boletín Oficial de la Ciudad de Ceuta nº 4738). Tras el procedimiento de selección, con fecha 26 de junio de 2008 se produce la contratación del técnico adscrito al subproyecto, dando comienzo las tareas programadas con un retraso de seis meses sobre el calendario previsto.

El cumplimiento de los plazos y procedimientos establecidos para los trámites de contratación de personal en los organismos públicos fue la causa fundamental del retardo en la fecha de inicio del subproyecto.

Este retraso inicial obligó a solicitar una prórroga sin financiación de seis meses sobre el cronograma planteado, por lo que el subproyecto se extendió durante el primer semestre de 2010.

Esta solicitud de prórroga sin financiación fue aprobada formalmente por el Grupo de Seguimiento de los Planes Nacionales de Cultivos Marinos en la sesión celebrada los días 28 y 29 de abril de 2009.



ERIO  
DIO AMBIENTE  
O RURAL Y MARINO

SECRETARÍA GENERAL  
DEL MAR

Ciudad de Ceuta



**JACUMAR**

JUNTA NACIONAL  
ASESORA DE CULTIVOS MARINOS

---

### 3.- JUSTIFICACIÓN ECONÓMICA DEL PRESUPUESTO ASIGNADO

Ciudad Autónoma de Ceuta

Presupuesto transferido: 91,121.00 €

¿Se ha ajustado el gasto a las partidas presupuestarias previstas inicialmente en el plan? ..... Si

Firma de la Autoridad Competente:

D<sup>a</sup> Yolanda Bel Blanca

Consejera de Medio Ambiente y Servicios Urbanos



ERIO  
DIO AMBIENTE  
O RURAL Y MARINO

SECRETARÍA GENERAL  
DEL MAR

Ciudad de Ceuta



**JACUMAR**  
JUNTA NACIONAL  
ASESORA DE CULTIVOS MARINOS

## **INFORME FINAL EXTENSO**

### **1.- DATOS ADMINISTRATIVOS**

**TITULO:** Subproyecto Ciudad de Ceuta: "Determinación de las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en Ceuta"

### **FECHAS DE REALIZACIÓN**

Inicio: 26/06/08

Finalización: 16/07/10

### **PRESUPUESTO TOTAL EN EUROS**

91,121.00 €

### **DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO**

Nombre y Apellidos: Francisco Javier Martínez Medina

Organismo/ Centro: OBIMASA

Teléfono: 956520104

Fax: 956520103

Correo electrónico: [fjmartinez@ceuta.es](mailto:fjmartinez@ceuta.es)

Dirección postal completa: Carretera Benzú-García Aldave s/n 51003 Ceuta

### **PARTICIPANTES**

#### **CENTROS DE INVESTIGACIÓN**

Tipo de centro: empresa pública

Nombre: Obras, Infraestructuras y Medio Ambiente de Ceuta S.A.U.

CIF: A-51004422

Nombre Representante Legal: Yolanda Bel Blanca



Ciudad de Ceuta



---

## DATOS DE LOS INVESTIGADORES

Apellidos: Martínez Medina  
Nombre: Francisco Javier  
Organismo: OBIMASA  
Teléfono: 956520104  
Fax: 956520103  
Correo electrónico: [fjmartinez@ceuta.es](mailto:fjmartinez@ceuta.es)  
Dirección postal completa: Carretera Benzú-García Aldave s/n 51003 Ceuta

Apellidos: Leiva García  
Nombre: Pilar M<sup>a</sup>  
Organismo: OBIMASA  
Teléfono: 956520104  
Fax: 956520103  
Correo electrónico: [pleiva@ceuta.es](mailto:pleiva@ceuta.es)  
Dirección postal completa: Carretera Benzú-García Aldave s/n 51003 Ceuta

## 2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

### 2.1. OBJETIVOS INICIALES

Considerando el interés suscitado por el cultivo de mejillón en Ceuta y la poca experiencia para desarrollarlo bajo las condiciones propias de su litoral, en el momento de la presentación del proyecto resultaba especialmente necesario realizar un seguimiento técnico de las diversas opciones disponibles de forma que pueda optimizarse la toma de decisiones, tanto a nivel administrativo como empresarial.

El objetivo general planteado fue obtener información básica que permita establecer las condiciones idóneas para el cultivo del mejillón en las aguas de la Ciudad de Ceuta y determinar la viabilidad técnica y económica del mismo.

Como objetivos específicos se plantearon los siguientes:

1. Mejorar el conocimiento de la problemática del cultivo de mejillón en Ceuta, particularmente con respecto a crecimiento, ciclo reproductor, condiciones de cultivo y factores de pérdida del producto.
  2. Generar información sobre las condiciones higiénico-sanitarias de la zona de implantación de la actividad.
  3. Determinar la presencia de semilla de mejillón a lo largo del litoral y evaluar su potencialidad para abastecer la demanda de los proyectos a nivel industrial.
  4. Evaluar los posibles impactos de la recolección de semilla sobre las comunidades biológicas.
-



## 2.2. OBJETIVOS REALIZADOS

Existe correspondencia entre los objetivos inicialmente planteados y los objetivos realizados.

Durante el desarrollo de proyecto se ha cumplido un objetivo adicional, obtener información sobre la prevalencia de enfermedades en los moluscos cultivados, sin que ello estuviera contemplado inicialmente.

## 2.3. METODOLOGÍA

### Línea 1: Estudio del ciclo de cultivo.

En esta línea de trabajo, se plantea estudiar el crecimiento y el rendimiento del cultivo, así como el ciclo de maduración gonadal y los factores de pérdida de ejemplares como episodios de mortalidad y desprendimientos, diferenciándose tres lotes de mejillón cultivado: mejillones adultos (talla media inicial de 65 mm), mejilla 1 (talla media inicial de 45 mm) y mejilla 2 (talla media inicial de 25 mm).

Metodología:

Las instalaciones consisten en bateas flotantes de madera de 25x20 metros con vigas maestras de través y cuerdas de cultivo de 12 metro de longitud aproximadamente. Las siembras se produjeron a principios de agosto de 2008.

Periódicamente se han extraído dos réplicas por lote de 40 ejemplares cada una. En cada ejemplar, se ha determinado el peso total, el peso de las valvas, el peso fresco de la carne, la longitud máxima de la concha y el índice gonadal observado macroscópicamente de la totalidad de ejemplares. Además, durante su manipulación se ha realizado un examen visual tanto externo como interno, para detectar posibles malformaciones, organismos asociados o cualquier otra circunstancia de interés. En el caso de presencia significativa de epibiontes, se ha medido el peso total y el peso del mejillón una vez desprendida la carga de epibiontes. Estas actividades son desarrolladas por el personal investigador adscrito al plan en las propias instalaciones de los promotores, quienes efectúan todas las operaciones de mantenimiento del cultivo.

Simultáneamente, *in situ* son medidas diversas variables ambientales (profundidad, conductividad, temperatura, pH, potencial redox, turbidez, clorofila y oxígeno disuelto) de la zona de estudio mediante sonda multiparamétrica modelo YSI 6600 V2.

Además, se ha tomado una muestra de agua y otra adicional de mejillón. Para la primera, se han determinado la presencia y abundancia de fitoplancton (en general y de forma particular para el fitoplancton potencialmente tóxico, expresada en nº células/l), los niveles de bacterias coliformes fecales (unidades



formadoras de colonias/100 ml) y las concentraciones de Nitritos, Amonio, Fosfatos, Silicatos y Nitratos (micromoles/l). En la muestra de mejillón se determinan la concentración de *Escherichia coli* (NMP/100 g), la presencia de *Salmonella* sp. y la presencia y/o concentración de biotoxinas (PSP en microgramos equivalentes/kg; AO, DTX, PTX, YTX, AZA; y ASP en miligramos/kg). Adicionalmente, se analizan con frecuencia cuatrimestral el contenido en metales (Cobre, Cadmio, Plomo, Mercurio, Arsénico, Níquel, Cromo y Plata, en mg/kg de peso fresco) y el contenido en compuestos organohalogenados (microgramos/kg peso fresco) y radionúclidos.

Todos estos controles se realizan en el marco del programa de seguimiento higiénico-sanitario de las Zonas de Producción de Moluscos que, conforme a la normativa vigente en la materia, desarrollan actualmente la Consejería de Medio Ambiente y Servicios Urbanos de la Ciudad de Ceuta y OBIMASA. Los análisis incluidos en este programa son realizados en el Laboratorio de Control de la Calidad de los Recursos Pesqueros de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, en virtud del contrato suscrito entre las empresas públicas Desarrollo Agrario y Pesquero (DAP) y OBIMASA.

## Línea 2: Evaluación de los procedimientos de auto-abastecimiento de semilla.

Esta línea de trabajo tiene como objetivo determinar la distribución y abundancia de mejillón a lo largo del litoral de Ceuta y evaluar su potencialidad para suministrar semilla a escala industrial, analizando posibles impactos de la recolección de este material sobre las comunidades biológicas.

### Metodología:

En la fase inicial del proyecto y al final de este se han realizaron transectos durante la bajamar a lo largo del intermareal de los substratos rocosos del litoral de Ceuta para efectuar un censo completo de los bancos naturales de mejillón, determinando su distribución y abundancia, así como las características generales de las comunidades biológicas donde aparezca éste, con especial atención a la presencia de especies protegidas. Se estimó el tamaño de los bancos hallados según su morfología, obteniéndose la longitud en el caso de asentamientos lineales (en grietas o fisuras) y la superficie en caso de que aparecieran en parches. La abundancia fue estimada siguiendo la siguiente escala:

- Abundancia 1: presencia testimonial, individuos aislados.
- Abundancia 2: pequeñas agrupaciones aisladas.
- Abundancia 3: agrupaciones aparentes.
- Abundancia 4: agrupaciones considerables discontinuas.
- Abundancia 5: franja continua a lo largo de buena parte del intermareal.



En el caso de niveles de abundancia 2, 3, 4 ó 5, se tomaba una muestra de entre el 10 y el 15% del total de los ejemplares, en la que se medía la longitud total de los mismos y se calculaba la talla media del asentamiento.

Además se han realizado transectos periódicos durante el 2009 para realizar un análisis temporal de la dinámica poblacional de los bancos de mejillón detectados y cuantificar la semilla de nueva fijación.

Los transectos fueron realizados a pie, recorriendo detenidamente tramo a tramo las zonas donde se consideraba posible el asentamiento de la especie (roquedos, islotes, espigones artificiales o línea costera con cualquier otro substrato duro). La localización de cada tramo se ha realizado sobre base cartográfica a escala 1:5000. En cada tramo se realizaba un reportaje fotográfico y se registraba cualquier circunstancia de interés, como evidencias de marisqueo, presencia de vertidos por aguas residuales, existencia de residuos, etc.

### Línea 3: Evaluación de enfermedades en moluscos.

Paralelamente a estas líneas de investigación y sin estar contemplado inicialmente en el proyecto, se han tomado muestras de mejillón cultivado en las bateas con el fin de controlar determinadas enfermedades en dichos ejemplares.

#### Metodología:

Se recolectaban muestras de 30 ejemplares de *Mytilus galloprovincialis*, que eran enviadas al Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades de Moluscos Bivalvos en Vigo. Mediante análisis histológico se determinaba la presencia de distintos patógenos, parásitos y bacterias fundamentalmente.

## 2.4. RESULTADOS

### Línea 1: Estudio comparado del ciclo de cultivo.

En el periodo de referencia se han efectuado 19 muestreos: 5 muestreos en 2008 (26 de agosto, 17 de septiembre, 8 de octubre, 19 de noviembre, 18 de diciembre) y 14 en 2009 (24 de febrero, 31 de marzo, 14 de abril, 13 de mayo, 26 de mayo, 09 de junio, 30 de junio, 28 de julio, 16 de septiembre, 07 de octubre, 27 de octubre, 18 de noviembre, 02 de diciembre y 16 de diciembre).

El promotor introdujo tres lotes distintos: mejillones adultos (talla media inicial de unos 65 mm), mejilla 1 (talla media inicial de 45 mm) y mejilla 2 (talla media inicial de 25 mm). Cada uno de estos lotes fue objeto de un seguimiento particular. El número total de individuos analizados ha sido de 3920, con una distribución equitativa entre los distintos lotes.

Las pérdidas sufridas en el cultivo están sujetas a diversas causas. Cabe destacar como principales causas los desprendimientos de individuos viejos y/o pesados o por fuertes temporales, y la depredación de peces (sargo, dorada...) que acuden para alimentarse del mejillón cultivado.

La fácil accesibilidad a la batea y a su producción es posible que sea causa de pérdidas por actividades furtivas.

No se han detectado episodios de mortalidad apreciables ni pérdidas significativas por desprendimiento de ejemplares.

La carga de epibiontes en los ejemplares ha disminuido drásticamente. En el año 2008 se observaron cirrípedos de las especies *Balanus eburneus* y *Balanus perforatus* en más del 55% de la población. Sin embargo, en 2009, la carga de epibiontes se reduce y afecta a menos de un 10%.

En cuanto al crecimiento, puede observarse como los diversos parámetros considerados (pesos y longitud) experimentan un notable incremento durante el primer trimestre en los dos lotes de mejilla, especialmente en la de menor talla inicial (de unos 25 mm), reduciéndose las diferencias en las tallas iniciales. Posteriormente, el incremento en el crecimiento y el engorde se reduce de magnitud. En el lote de mejillones adultos, con una talla inicial ya considerable, se detecta un incremento moderado en talla y masa pero sostenido.

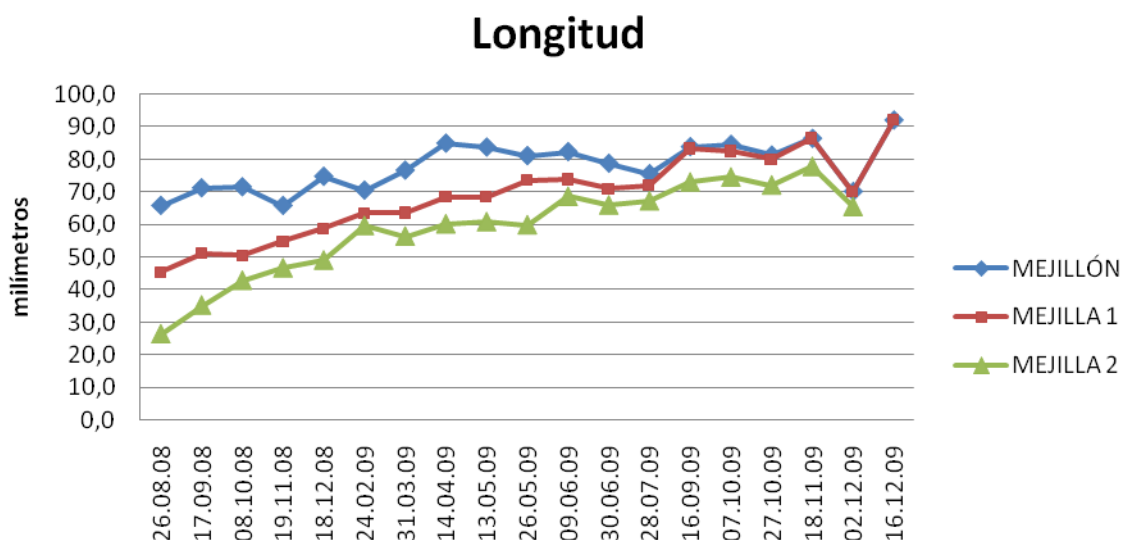


Figura 1. Evolución de la longitud del individuo en los distintos lotes.

El incremento de la longitud (ver Figura 1) se mantiene durante el invierno de forma más o menos regular. Entre abril y mayo de 2009 tiende al estancamiento y durante los meses de junio y julio, se produce un leve

descenso. A partir de este momento, los valores de crecimiento se incrementaron ligeramente. En cuanto al peso total en fresco (ver Figura 2), los valores siguen un comportamiento similar. Es probable que la inversión energética en las estructuras reproductoras del mejillón y la liberación de gametos tengan como consecuencia la ralentización del crecimiento en longitud y en peso durante los periodos señalados.

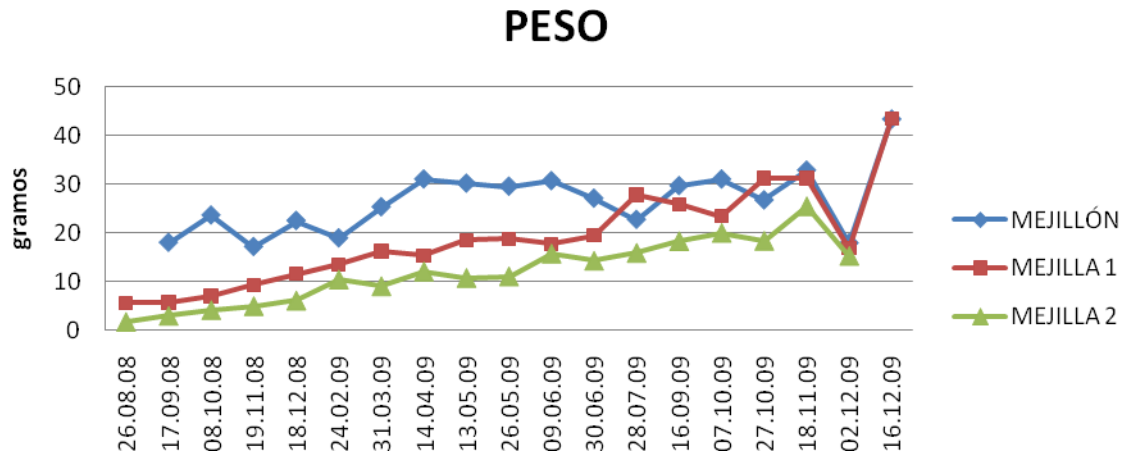


Figura 2. Evolución del peso del individuo en los distintos lotes.

Los datos obtenidos los días 2 y 16 de diciembre de 2009 no se corresponden con el comportamiento normal de la curva de crecimiento observada anteriormente. Esto puede ser debido a las tareas de mantenimiento realizadas por parte de los promotores antes de estos muestreos.

Las mayores tasas de crecimiento se han obtenido entre julio y septiembre alcanzando un valor máximo de 11,3 mm/mes. El valor promedio ha sido de 3,86mm/mes. En 10 meses el lote mejilla 1 ha alcanzado una talla comercial superior a 70mm.

Los valores del rendimiento en carne sobrepasan el 40% al alcanzar el undécimo mes de cultivo, entre los meses de junio y octubre, con un máximo del 42,4% en septiembre tras trece meses de cultivo. A partir de este momento parece apreciarse un descenso.

Los resultados obtenidos en el lote de mejilla 1 se han considerado como representativos del cultivo (ver Figura 3).



## IC

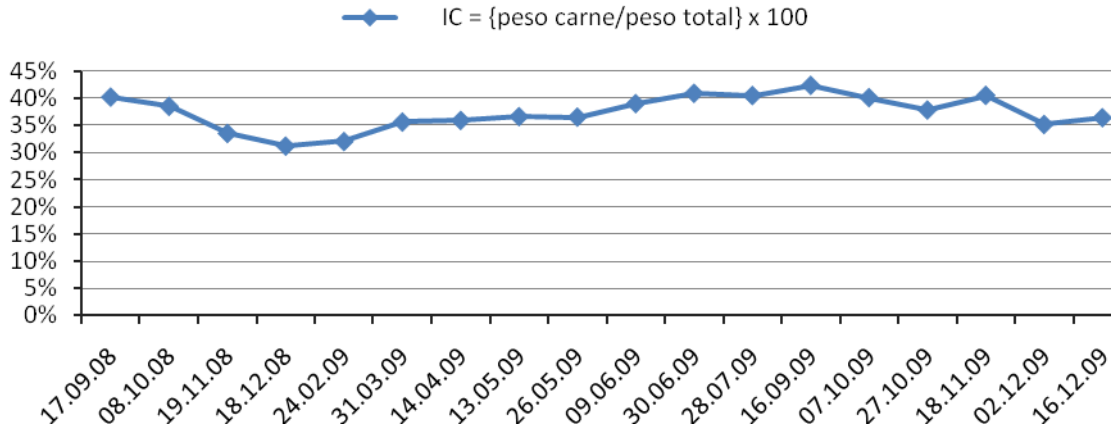


Figura 3. Índice de condición del lote mejilla 1.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las observaciones macroscópicas de las ejemplares *M. galloprovincialis* cultivados en las bateas, siempre es posible encontrar ejemplares gonadalmente activos durante todo el ciclo de cultivo. Aunque es en abril cuando parece iniciarse la actividad, alcanzando el 100% de los ejemplares activos a finales de mayo (ver Figura 4). Se inicia un periodo de actividad gonadal durante primavera y verano, hasta primeros de octubre con otro pico importante de actividad, seguido de una reabsorción gonadal a finales de este mismo mes.

Por tanto, se puede indicar que hay dos momentos importantes de reactivación gonadal durante el ciclo, uno en primavera (abril) y otro en otoño (octubre), meses en los cuales se puede observar un estancamiento y descenso del peso vivo respectivamente en los ejemplares.

## Índice Gonadal

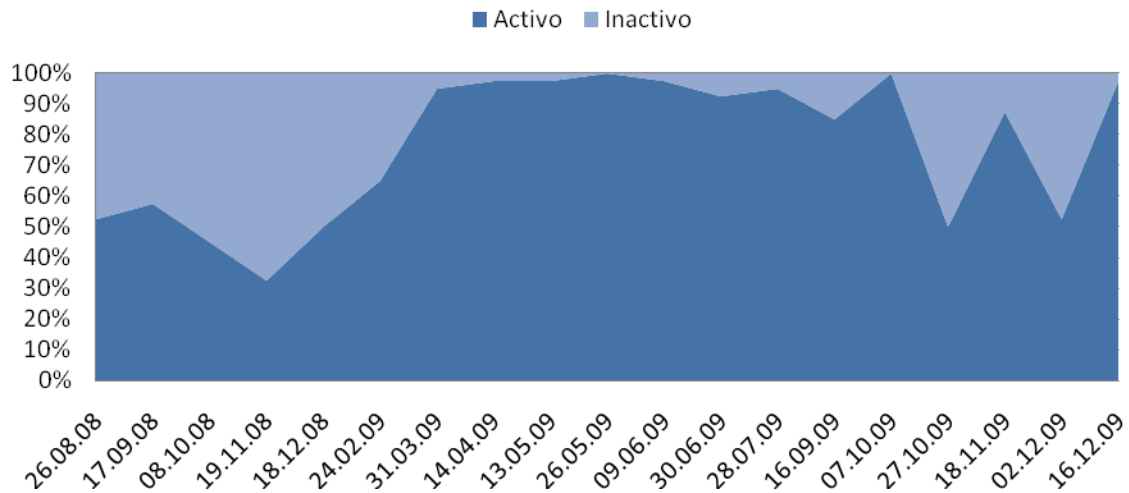


Figura 4. Índice Gonadal del mejillón.

Por otra parte, se puede observar una importante cantidad de mejilla de nueva fijación adherida al mejillón en cultivo en el mes de septiembre, con una longitud media de 20mm, probablemente fruto de la liberación de gametos durante los meses de primavera y verano (ver Figura 5).

## Mejilla de nueva fijación

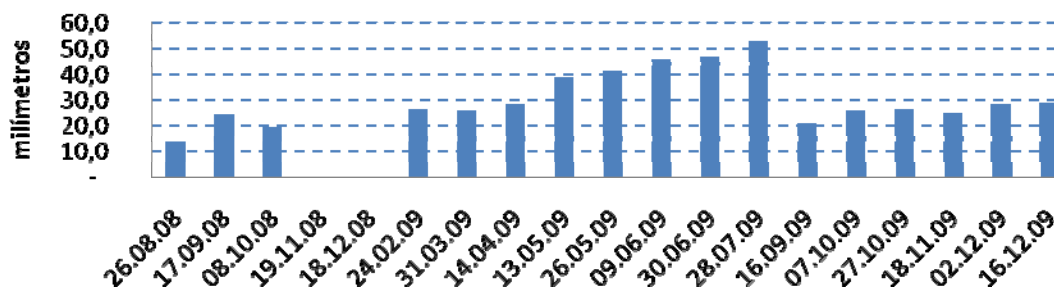


Figura 5. Longitud media de la mejilla de nueva fijación.

Se cuenta con el registro completo de los parámetros físico-químicos cuantificados a 0, 6 y 12 metros de profundidad: conductividad, temperatura, pH, potencial redox, turbidez, clorofila y oxígeno disuelto. No se han observado valores anormales.

Los resultados del **análisis microbiológico** en la muestra de mejillón ponen de manifiesto la presencia de *Salmonella* sp. en una sola ocasión correspondiente al 27 de octubre de 2009. De las muestras analizadas, el 58% de los casos se

superan los límites de contaminación permitidos de *Escherichia coli* para zonas tipo "A" (230 NMP/100g) y en un 26% los niveles se encuentran por debajo de los límites que marca la legislación para zonas tipo "A".

Muestras	E. coli (NMP/ 100g)	Salmonella	BIOTOXINAS		
			PSP (µg eqSTX.2HCL/Kg)	AO,DTX,PTX,YTX y AZA	ASP (mg AD/Kg)
26.08.08	2200	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
17.09.08	90	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
08.10.08	220	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
19.11.08	-	-	<400	NEGATIVO	<2
18.12.08	110	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
24.02.09	310	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
31.03.09	54000	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	92,37 PRESENCIA
14.04.09	700	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
13.05.09	310	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
26.05.09	3100	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
09.06.09	20	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
30.06.09	1300	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
28.07.09	20	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
19.08.09	3100	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
16.09.09	310	AUSENCIA	850 PRESENCIA	NEGATIVO	<2
07.10.09	1300	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
27.10.09	5000	PRESENCIA	<400	NEGATIVO	<2
18.11.09	310	AUSENCIA	440	NEGATIVO	<2
02.12.09	5000	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2
16.12.09	1700	AUSENCIA	<400	NEGATIVO	<2

Tabla 1. Resultados del análisis microbiológico y biotóxico del mejillón.

En cuanto a la presencia de **biotoxinas**, los muestreos realizados dieron en general como resultados valores inferiores a los límites legales establecidos, sin que se hayan detectado episodios importantes. Sin embargo, cabe reseñar dos excepciones en las que se han rebasado los límites legales establecidos, una para las toxinas amnésicas en marzo de 2009 y otra para las toxinas paralizantes en septiembre de 2009 (ver Tabla 1).



Por otra parte, entre las **especies de fitoplancton** potencialmente tóxicas destaca *Pseudo-nitzschia spp.*, especie productora de toxina amnésica, con niveles significativamente altos de *Pseudo-nitzschia australis* a finales de marzo de 2009 que alcanza 400.000 células/L, y asociado a la presencia de toxinas amnésicas (ácido domoico) en la muestra de mejillón analizada. El segundo registro apenas alcanza las 100.000 células/L y el porcentaje de *P. australis* se reduce al 20%, detectado en el mes de abril.

El dinoflagelado *Gymnodinium catenatum*, productor de toxinas paralizantes (PSP), se encuentra en las muestras de agosto y septiembre de 2009. Supera el nivel de alerta establecido en ambos casos, si bien la concentración es mayor en agosto. Este hecho se relaciona con la detección de toxinas paralizantes en la muestra de mejillón del mes de septiembre.

Las especies productoras de toxinas lipofílicas, aparecen de forma recurrente aunque en concentraciones muy bajas, siendo en la mayoría de los casos detectables únicamente en la muestra cualitativa. Destacan las especies *Dinophysis caudata* y *Dinophysis acuminata*. El dinoflagelado *Lingulodinium polyedrum*, productor de yessotoxinas se encuentra en sólo una muestra cualitativa correspondiente a abril de 2009.

En cuanto al seguimiento de la calidad de las aguas, no se han apreciado niveles importantes de contaminación fecal, tan solo a principios de octubre presenta valores algo más elevados de *coliformes fecales* en agua (450 ufc/100 ml).

Los valores de concentración de **nutrientes** son relativamente bajos aunque se han encontrado valores puntualmente destacables para ciertos nutrientes. En especial, destacan sobre las demás las muestras con fecha 14/04/09 y 28/07/09. En estas se han obtenido resultados superiores al resto de muestras en los valores de fosfato y nitrato alcanzados en abril y de amonio en julio. En el contexto general, los resultados obtenidos son típicos de aguas marinas.

En todas las muestras analizadas, los valores hallados de **metales pesados** se encuentran por debajo de los límites máximos definidos en la normativa actual, que para el cadmio es de 1,0 mg/kg p.f., para el plomo 1,5 mg/kg p.f. y para el mercurio de 0,50 mg/kg p.f. Para los restantes metales (cobre, arsénico, hierro, manganeso, zinc, níquel, cromo y plata) no se han detectados valores especialmente destacables de contaminación metálica.

En el caso de **compuestos organohalogenados**, se han analizado los pesticidas organoclorados lindano (-HCH), hexaclorobenceno (HCB) y diclorodifeniltricloroetano (DDT), incluyendo sus metabolitos 2,4'-DDE, 4,4'-DDE, 2,4'-DDD, 4,4'-DDD, expresando el resultado como la suma (\_DDT) de todos ellos.



Además, dentro del grupo de compuestos organohalogenados, también se han analizado diversos policlorobifenilos (PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180) y expresándolo también como la suma de estos 7 compuestos (PCB7). No se han encontrado valores destacables de ambos grupos de compuestos en las muestras analizadas.

Los resultados de **Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos** (PAH) en las muestras analizadas han sido  $<0,8 \mu\text{g}/\text{kg p.f.}$  La normativa actualmente vigente reconoce únicamente como límite máximo la concentración de  $10,0 \mu\text{g}/\text{kg p.f.}$  de benzo(a)pireno. Los restantes PAH analizados (benzo(a)antraceno, criseno y benzo(b)fluoranteno) no poseen límite máximo normativo, pero han sido recomendados por la AESAN también como indicadores para el control de este grupo de compuestos.

En cuanto a los **radionúclidos**, todos los valores pueden considerarse normales, con la excepción del Polonio-210 ( $^{210}\text{Po}$ ) y el Plomo-210 ( $^{210}\text{Pb}$ ) en las muestras, los cuales a pesar de ser considerados como radionúclidos naturales, presentan una actividad relativamente elevada, por lo que es recomendable realizar un seguimiento para valorar su evolución. Actualmente no existen máximos normativos para  $^{210}\text{Po}$  y  $^{210}\text{Pb}$ .

#### Línea 2: Evaluación de los procedimientos de auto-abastecimiento de semilla.

En 2008 fue realizado el censo completo del litoral de la bahía sur de Ceuta, donde permanecen las únicas bateas activas, lo que ha permitido determinar la situación inicial de partida de los bancos naturales de mejillón en toda esta zona.

Se han inspeccionado un total de 7.500 metros lineales de costa. Los transectos fueron realizados entre el 8 de julio y el 12 de septiembre de 2008, con un total de 18 salidas y 44 horas de muestreo.

Se ha obtenido una cartografía a escala 1:5000 con la localización, distribución y abundancia del mejillón en este tramo de costa. Generalmente aparece en pequeños grupos aislados instalados en grietas y fisuras, con moderada ocurrencia de bancos dispersos de entre 30 y 240 cm de longitud. No se ha registrado el nivel 5 de abundancia, es decir, franjas continua a lo largo del intermareal. Ocupa tanto los substratos naturales existentes (gneises, filitas, esquistos) como los artificiales (fundamentalmente espigones con escollera de piedra calcárea), aunque es claramente más abundante en los primeros. En cuanto a la talla, el 90% de los ejemplares medidos no superaban los 30 mm de longitud total.



Figuras 6 y 7: Aspecto de algunas agrupaciones de mejillones detectadas en el litoral de la bahía sur de Ceuta.

Durante 2009, los transectos periódicos realizados para un análisis temporal de la dinámica poblacional de los bancos de mejillón no revelan cambios respecto a los datos recogidos inicialmente.

Por otra parte, se ha constatado que la especie protegida *Patella ferruginea*, catalogada como “En Peligro de Extinción”, aparece de forma significativa en todo el ámbito estudiado, compartiendo hábitat con el mejillón. En la mitad este del mismo, al este también de las bateas actualmente instaladas, esta especie es especialmente abundante, lo que puede originar conflictos si llega el momento de plantear actividades de marisqueo para la recolección de semilla.

Asimismo, se ha detectado la presencia de la especie de mejillón *Perna picta*, previamente no conocida en la zona de estudio, en sintopía con el mejillón *Mytilus galloprovincialis*.

Los censos realizados en el 2010, incluyendo la bahía norte en la zona de prospección, con un total de 19 salidas realizadas entre el 19 de Abril y al 30 de Junio de 2010 no han puesto de manifiesto una colonización del litoral con larvas procedentes de las bateas instaladas en la bahía sur, ni se han apreciado cambios significativos en la presencia y abundancia del mejillón en la costa.

Estos datos sugieren que el banco natural de mejillón no puede considerarse una fuente viable de abastecimiento de semilla a escala productiva. La zona de bahía norte, sin embargo, presenta bancos de mejillones de mayor tamaño y ejemplares que superan los 30 mm de longitud total y se registran franjas continuas a lo largo del intermareal, junto a poblaciones de *polycipes sp.* y *perna picta*.

### Línea 3: Evaluación de enfermedades en moluscos.

Se han realizado un total de diez muestreos en el transcurso del proyecto.

Los siguientes resultados analíticos corresponden a los muestreos realizados los días 14 de agosto, 27 de agosto, 18 de septiembre, 9 de octubre y 20 de noviembre de 2008.

El resultado de los análisis histológicos obtenidos reveló la presencia de ***Marteilia sp.*** como el parásito más frecuente, seguido de los ciliados intracelulares, en las muestras recogidas durante 2008. Sin embargo, en el año 2009 el porcentaje de presencia de patógeno en las muestras disminuye considerablemente, hasta el 14 de Mayo, fecha de muestreo en la que no se reveló la presencia de ningún patógeno de declaración obligatoria conforme al Real Decreto 1614/2008 de 3 de octubre relativo a los requisitos zoonosarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como de la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos, con el fin de controlar la presencia de distintos patógenos.

	14/08/2008	27/08/2008	19/09/2008	09/10/2008	20/11/2008
<i>Rickettsia</i>			10%	8%	
<i>Steinhausia sp.</i>		3,50%		16%	
<i>Marteilia sp.</i>	8,30%	17,80%	16,60%		3,30%
Ciliados Intracelulares	25%	7,10%		8%	3,30%
Trematodo		7,10%	6,60%		
Turbelarios	4,10%	3,50%			3,30%
<i>Mytilicola intestinalis</i>		21,40%	6,60%		

Tabla 2. Porcentajes de presencia de patógenos de las muestras analizadas durante 2008



	25/02/2009	01/04/2009	14/05/2009	08/10/2009	03/12/2009
<i>Rickettsia</i>	3,30%				
<i>Steinhausia</i> <i>sp.</i>					
<i>Marteilia</i> <i>sp.</i>					
Ciliados Intracelulares	13,30%	10,00%			
Trematodo					
Turbelarios					
<i>Mytilicola</i> <i>intestinalis</i>	3,30%	3,30%			

Tabla 3. Porcentajes de presencia de patógenos de las muestras analizadas durante 2009

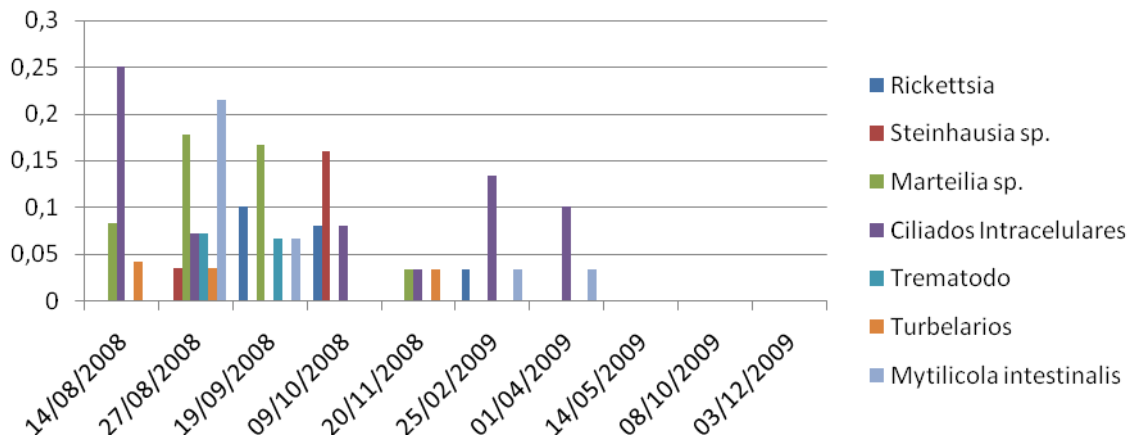


Figura 8: Evolución de la presencia de patógenos en el mejillón cultivado.

## 2.5. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones alcanzadas son las siguientes:

- En cuanto al crecimiento del mejillón cultivado, los parámetros considerados (pesos y longitud) experimentan un notable incremento durante el primer trimestre. Posteriormente, el incremento es moderado pero sostenido.
- Las mayores tasas de crecimiento se han obtenido entre julio y septiembre alcanzando un valor máximo de 11,3 mm/mes. El valor promedio ha sido de 3,86mm/mes. En 10 meses el lote mejilla 1 ha alcanzado una talla comercial superior a 70mm.



- Los valores del rendimiento en carne sobrepasan el 40% al alcanzar el undécimo mes de cultivo, entre los meses de junio y octubre, con un máximo del 42,4% en septiembre tras trece meses de cultivo. A partir de este momento parece apreciarse un descenso.
- En relación con los resultados del análisis microbiológico, se ha detectado presencia de *Salmonella sp.* en una sola ocasión. Los valores del recuento de *E. coli* se encuentran en un 58% de las muestras dentro de los límites establecidos por la normativa vigente para clasificar la zona como de tipo B, y en un 26% de las muestras corresponderían a una zona tipo A.
- La presencia de biotoxinas en los muestreos realizados dieron en general como resultados valores inferiores a los límites legales establecidos, con tan sólo dos excepciones: una para toxinas amnésicas y otra para toxinas paralizantes.
- Los valores de concentración de metales y de compuestos órgano-halogenados no son destacables, estando por debajo de los límites recogidos en la normativa vigente.
- Los datos sugieren que el banco natural de mejillón no puede considerarse una fuente viable de abastecimiento de semilla a escala productiva.

En consecuencia, tanto los datos de engorde y crecimiento como las condiciones higiénico-sanitarias de la zona pueden ser considerados como elementos positivos en la viabilidad de esta actividad. Por el contrario, un factor limitante podría ser el abastecimiento de semilla, que o bien debería ser exportada de otras regiones o captada en las propias instalaciones.

## 2.6. DIFUSIÓN

En el ámbito científico, la difusión de los resultados del subproyecto se ha realizado mediante la participación en el XII Congreso Nacional de Acuicultura (noviembre 2009), en el que se presentó una comunicación en formato póster.

Ante la opinión pública se han realizado diversas intervenciones en los medios de comunicación, destacando las noticias y reportajes aparecidos en prensa escrita.

El sector, conformado por un solo promotor, ha sido informado directamente a través de un dossier abreviado con los principales resultados.

En todos los casos se mencionaba que la financiación del subproyecto se realiza en el marco de los Planes Nacionales de Cultivos Marinos promovidos por JACUMAR.



---

#### Tipos de documentos:

- Póster titulado “*Seguimiento del cultivo de mejillón en la Ciudad de Ceuta*”, donde se resumen los resultados más relevantes del subproyecto. Presentado en Madrid el día 25 de noviembre en el XII Congreso Nacional de Acuicultura. Autores: P. Leiva-García y F.J. Martínez-Medina.

- Medios de comunicación locales:

- Reportaje: El Faro de Ceuta, 19/04/2009. “*Las bateas en la Bahía Sur suman unos 4.000 kilos de mejillones*”.

- Noticia: Ceuta al Día, 30/04/2009. “*Medio Ambiente prorroga hasta junio de 2010 el proyecto sobre cultivo de mejillones*”.

- Reportaje: El Faro de Ceuta, 15/01/2010. “*La miticultura, un proyecto viable*”.

En un periódico de ámbito comarcal de la provincia de Cádiz (EuropaSur) se hizo referencia al proyecto llevado a cabo en Ceuta en la publicación del día 24 de enero de 2010 “*El mejillón de Getares llega al mercado*”. Esta noticia fue recogida asimismo en la página web de la Fundación OESA (<http://www.fundacionoesa.es/noticias/acuicultura-espana-el-mejillondegetares-llega-al-mercado>).

#### 2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

El subproyecto correspondiente a la Ciudad de Ceuta fue una incorporación en 2008 a un proyecto ya en ejecución, el Plan Nacional de Cultivos Marinos denominado “Cultivo de mitílidos: expansión y sostenibilidad”, iniciado en 2007.

La propuesta de incorporación de Ceuta fue inicialmente aceptada en la 62ª reunión de la JACUMAR celebrada el 8 de mayo de 2007. Tras la elaboración de la documentación y la evaluación de la misma, fue finalmente aprobada el 11 de diciembre de 2007 en la 63ª reunión de JACUMAR, con un presupuesto total de 91.121 euros, correspondiendo 40.000 euros al ejercicio de 2008 y 51.121 al de 2009.

Tras la comunicación formal de la aprobación de esta incorporación, realizada mediante escrito de fecha 19 de diciembre de 2007 del Subdirector General de Gestión de los Fondos Estructurales y Acuicultura, se iniciaron las gestiones necesarias para la puesta en marcha del subproyecto.

La base fundamental de éste es la provisión de una plaza de personal técnico con el 75% de dedicación, encargado de realizar el grueso de las actividades previstas, aspecto al que va destinado la mayor parte del presupuesto asignado.

---



ERIO  
DIO AMBIENTE  
O RURAL Y MARINO

SECRETARÍA GENERAL  
DEL MAR

Ciudad de Ceuta



**JACUMAR**  
JUNTA NACIONAL  
ASESORA DE CULTIVOS MARINOS

Es el 13 de mayo de 2008 cuando se hace pública la correspondiente convocatoria de empleo (Boletín Oficial de la Ciudad de Ceuta nº 4738). Tras el procedimiento de selección, con fecha 26 de junio de 2008 se produce la contratación del técnico adscrito al subproyecto, dando comienzo las tareas programadas con un retraso de seis meses sobre el calendario previsto.

El cumplimiento de los plazos y procedimientos establecidos para los trámites de contratación de personal en los organismos públicos fue la causa fundamental del retardo en la fecha de inicio del subproyecto.

Este retraso inicial obligó a solicitar una prórroga sin financiación de seis meses sobre el cronograma planteado, por lo que el subproyecto se extendió durante el primer semestre de 2010.

Esta solicitud de prórroga sin financiación fue aprobada formalmente por el Grupo de Seguimiento de los Planes Nacionales de Cultivos Marinos en la sesión celebrada los días 28 y 29 de abril de 2009.



**Proyecto: Cultivo de Mitílidos: expansión y sostenibilidad**

**Subproyecto de la C.A. de Galicia:**

## Evaluación del impacto de los métodos y niveles utilizados para el control de toxinas en el mejillón

---

**INFORME FINAL**

**I.P. Juan Blanco Pérez**

**Vilanova de Arousa , 23 de marzo de 2011**

## Proyecto: Cultivo de Mitílidos: expansión y sostenibilidad

### Subproyecto de la C.A. de Galicia:

# Evaluación del impacto de los métodos y niveles utilizados para el control de toxinas en el mejillón

---

## A) PARTICIPANTES

Los siguientes centros han participado en las investigaciones del proyecto JACUMAR- CULMITES por parte de la Comunidad Autónoma de Galicia.

Centro de Investigacións Mariñas. Consellería do Mar. Xunta de Galicia  
Centro Tecnolóxico para o Control do Medio Mariño (INTECMAR).  
Consellería do Mar. Xunta de Galicia  
Consello Regulador del Mejillón de Galicia

## B. OBJETIVOS

### Objetivo general:

Evaluar el impacto económico de los métodos de control de toxinas en el cultivo de mejillón

### Objetivos parciales:

Evaluar el impacto de las diferentes técnicas de control  
Evaluar el impacto de los niveles máximos permisibles

Los beneficios previstos de la consecución de los objetivos eran:

*“El desarrollo del proyecto permitirá evaluar:*

- *Diferencias de los nuevos sistemas de control con el actual (bioensayo de ratón).*
- *Ventajas y limitaciones de los nuevos sistemas.*
- *Posibles complementariedades de los nuevos sistemas.*
- *Viabilidad técnica/económica de la implementación.*

- *Importancia real de las variaciones del nivel admisible sobre el riesgo sanitario y el impacto económico de las toxinas.*
- *Permitirá además asesorar a las CCAA que pretenden introducir o expandir el cultivo del mejillón en relación al sistema de control de toxinas más adecuado.”*

Todos los objetivos se han conseguido y los beneficios esperables se han obtenido

## C. METODOLOGÍA

Las siguientes metodologías se han usado en los estudios realizados:

### 1. Métodos de determinación de toxicidad

#### a. PSP

- i. Bioensayo estándar de ratón
- ii. Ensayos con kits Jellett (inmunoensayos)
- iii. Análisis por HPLC con oxidación postcolumna y detección por fluorescencia, siguiendo varias metodologías. Las estimaciones de flujo de trabajo u límites de detección se hicieron con una combinación de las dos primeras técnicas ya que se encontraron más robustas para el control que la tercera. Los métodos empleados fueron los siguientes:
  1. Oshima (utilizando 4 inyecciones, en elución isocrática) (Oshima, 1995)
  2. Franco y Fernández Vila (utilizando 4 inyecciones en elución isocrática) (1993)
  3. Rourke et al (2008) utilizando dos inyecciones en gradiente
- iv. Análisis por HPLC con oxidación Precolumna y detección por fluorescencia (Lawrence et al 2005)

#### b. DSP

- i. Bioensayo de ratón estándar
- ii. Ensayos con kit de inhibición de fosfatasas Zeu-Inmunotec Toxiline- DSP (Fluorescencia).
- iii. Análisis por HPLC-MS y HPLC-MS/MS con sistemas Thermo Surveyor y Thermo Accela acoplados a un espectrómetro de masas de trampa iónica (Thermo Deca XPplus) y de triple cuadrupolo (Thermo Quantum Access Max). Los métodos empleados a lo largo del estudio fueron varios. En todos los casos se utilizó una hidrólisis alcalina para convertir los ésteres de las toxinas principales a estas toxinas en forma libre para posibilitar su cuantificación:
  1. Método cromatográfico en condiciones ácidas (Quilliam 2003). Modificado del original por la realización de la ionización en modo negativo y complementado con

- extracciones en fase sólida para tratar de minimizar el efecto matriz
2. Método cromatográfico en condiciones básicas (Gerssen et al 2009)
  3. Método desarrollado en condiciones básicas con preconcentración y limpieza de la muestra en línea (solo pruebas, no flujo de trabajo)
2. Seguimiento de los episodios de toxicidad durante el período de estudio y adquisición de muestras
    - a. Estas actividades se llevaron a cabo siguiendo los protocolos establecidos para el control de biotoxinas en Galicia, del INTECMAR
  3. Valoración económica de los efectos de los cierres
    - a. Datos de cierres: Se utilizaron los datos de cierre de explotación por causa de toxicidad de tipo PSP y DSP aportados por INTECMAR
    - b. Estimaciones de alargamiento de los cierres. Estas estimaciones se llevaron a cabo combinando dos métodos diferentes.
      - i. Recalculando los períodos de cierre utilizando como criterio el límite de detección del bioensayo de ratón. Esta aproximación fue utilizada para estimar el tiempo de adelanto de los cierres y de retraso de las aperturas al bajar el nivel de toxicidad permisible hasta el detectable por bioensayo de ratón.
      - ii. Estimando el retraso de las aperturas desde la toxicidad detectable por el ratón hasta el nivel elegido, por medio de modelos cinéticos de desintoxicación desarrollados en estudios anteriores por parte del equipo de investigación.
    - c. Estimaciones del coste económico
      - i. Datos de producción total e incidencia de biotoxinas. Para este fin se utilizaron los datos obtenidos por Intecmar y los disponibles en el Consejo Regulador del Mejillón de Galicia de diversas fuentes, y que cubren la práctica totalidad de las instalaciones de producción de mejillón de Galicia.
      - ii. Datos sobre el cultivo de mejillón. Se utilizaron datos de la Organización de Productores de Mejillón de Galicia y de la Consellería do Mar, para producción anual y su fraccionamiento en meses.
      - iii. Datos sobre el tipo de producción (fresco, congelado). Se utilizaron datos de la Organización de Productores de Mejillón de Galicia, que representan entre un 31 y un 54% de la producción de Galicia, dependiendo del año.

## D. RESULTADOS

### 1. Impacto de las técnicas de control

#### 1.1. Impacto en los niveles reales

##### 1.1.1. Técnicas de PSP

###### 1.1.1.1. HPLC con oxidación postcolumna

Las estimaciones de la técnica de HPLC con oxidación postcolumna coincidieron bastante bien con las del bioensayo de ratón, aunque, como era de esperar el error es considerable. Si se promedian los valores de toxicidad estimada por ratón correspondientes al primer positivo y primer negativo obtenidos con esta técnica, se obtiene un valor de 1000  $\mu\text{g eq-STX/kg}$ , únicamente un 20% superior al establecido para el bioensayo. Adicionalmente, la pendiente de la recta de regresión ente la toxicidad estimada por HPLC-PC y bioensayo de ratón es de aproximadamente 0.98 (estimada como promedio de las dos regresiones posibles), muy próxima a 1.

No es esperable, por tanto, que la utilización de esta técnica para el control lleve en la práctica al uso de un nivel permisible diferente del actual con el bioensayo de ratón, por lo cual no debería suponer ningún impacto significativo en la duración de los períodos de cierre.

###### 1.1.1.2. HPLC con oxidación precolumna

La técnica de HPLC precolumna subestimó notablemente la toxicidad si se considera como referencia la obtenida mediante el bioensayo de ratón. Siguiendo el mismo criterio que en el caso del HPLC-postcolumna y estimando el nivel práctico de cierre para esta técnica como la media del resultado negativo más alto y del positivo más bajo, se obtiene un valor de 1500 $\mu\text{g eq-STX/kg}$ , lo cual supone casi el doble del nivel utilizado con el bioensayo de ratón. En este caso sí puede haber consecuencias tanto para la explotación de los bivalvos como para la seguridad alimentaria, ya que el nivel práctico de cierre es considerablemente superior. El método HPLC-precolumna no detectó Neo-STX y STX en algunas muestras en las que se detectaron con la técnica de HPLC postcolumna

###### 1.1.1.3. Kits Jellett de inmunocromatografía de flujo lateral

En los episodios de *Gymnodinium catenatum* los tests de Jellett dieron resultados positivos incluso con toxicidades inferiores al límite de detección del bioensayo de ratón, que es de 380  $\mu\text{g eq-STX/kg}$ . En el episodio estudiado de *Alexandrium minutum*, muestras con toxicidades estimadas por bioensayo de ratón de 380 $\mu\text{g eq-STX/kg}$  e inferiores a 90  $\mu\text{g eq-STX/kg}$  por HPLC precolumna (Lawrence) dieron resultados positivos en los tests de Jellett. Parece, por tanto, que este test mide niveles notablemente inferiores a los del umbral de cierre en las dos especies productoras de PSP en Galicia con los perfiles tóxicos que tuvieron en este estudio.

**Tabla 1. Concentraciones de toxinas PSP determinadas por HPLC precolumna, toxicidad calculada, toxicidad estimada por bioensayo de ratón y respuesta de los test Jellett en un episodio de *Alexandrium minutum* en la Ría de Ares-Betanzos en el año 2007**

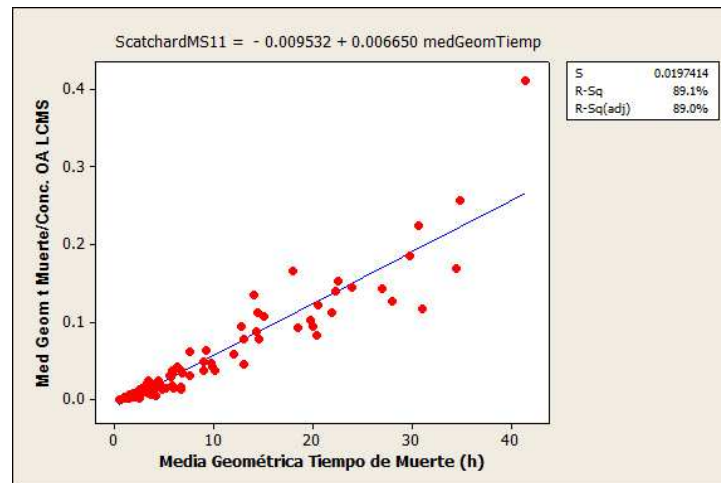
Fecha	Muestra	Lawrence						TOTAL(eq STX)	Bioensayo (µgSTXeq/kg)	Jellett
		C1,2 (µmol/L)	STX ) (µmol/L)	GTX1,4 (µmol/L)	GTX5 (µmol/L)	GTX2,3 (µmol/L)				
9/3/2007	4832	< LQ	< LQ	0,214	< LQ	0,652	<b>2171,7</b>	2310	positivo	
9/18/2007	5205	< LQ	< LQ	0,10017	< LQ	0,209	<b>804.4</b>	740	positivo	
9/18/2007	5206	< LQ	< LQ	0,1333	< LQ	0,1857	<b>867.1</b>	780	positivo	
9/18/2007	5207	< LQ	< LQ	0,10289	< LQ	0,1176	<b>612.5</b>	760	positivo	
9/27/2007	5428	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,085	<b>187,4</b>	500	positivo	
9/27/2007	5429	no detectada	< LQ	< LQ	< LQ	0,0701	<b>154.5</b>	400	positivo	
9/27/2007	5430	no detectada	< LQ	< LQ	< LQ	0,0698	<b>153.8</b>	380	positivo	
9/28/2007	5444	no detectada	< LQ	< LQ	< LQ	0,1259	<b>277,5</b>	410	positivo	
9/28/2007	5446	< LQ	< LQ	0,0925	< LQ	0.06	<b>450.4</b>	410	positivo	
10/3/2007	5541	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,0404	<b>89,1</b>	380	positivo	
10/3/2007	5543	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,0316	<b>69.8</b>	410	positivo	

En 2007 se hizo público un informe de CEFAS, en el Reino Unido sobre este tipo de test y sus posibles limitaciones [Informe CEFAS](#). En dicho informe se constata una escasa sensibilidad de este tipo de tests fundamentalmente para la GTX4/1 y para la NeoSTX y en un estudio reciente se resalta también esa debilidad (Laycock et al 2010). Aunque en nuestro estudio no hemos podido constatar este hecho, resulta claro que no se puede asignar a la técnica un límite de detección determinado ya que este depende del perfil de toxinas que tengan las muestras que se han de analizar. Parece claro que en los perfiles que se han dado en los episodios estudiado el nivel de detección es sustancialmente inferior al del bioensayo de ratón, per es arriesgado generalizar a todas las situaciones posibles.

## 1.1.2. Técnicas de DSP

### 1.1.2.1. LCMS

Para calcular cuales son las concentraciones de toxinas estimadas por esta técnica que corresponden al cierre por bioensayo de ratón se relacionó la media geométrica del tiempo de muerte de los ratones con la concentración de ácido okadaico estimada por LC/MS.



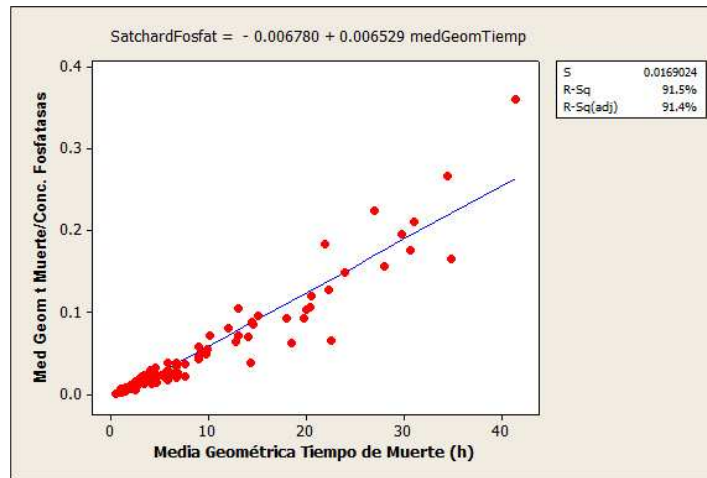
**Figura 2. 1** Gráfico Scatchard de la relación entre la media geométrica del tiempo de muerte de los ratones con el bioensayo de DSP y la concentración de ácido okadaico determinada por HPLC-MS

Si asumimos que un resultado positivo se da con un tiempo mínimo de dos ratones que mueren en 24 horas y uno más en 48, la media geométrica del tiempo de muerte será 30.24 minutos. En la práctica, si en el conjunto de datos analizados por bioensayo de ratón calculamos los tiempos de muerte asociados a los cierres, encontramos que el tiempo más bajo con bioensayo negativo es de 20 minutos y que el más alto con resultado positivo es de 23.9 minutos. La media de ambos es de 21.0 minutos y debe estar próxima al tiempo correspondiente al nivel medio de cierre en la práctica. Utilizando la relación entre el tiempo de muerte y la concentración de ácido okadaico determinada por LC/MS que se muestra en la figura 2.1, puede estimarse que el tiempo teórico de cierre corresponde a una concentración de 158 µg/kg y el tiempo encontrado en la práctica, a 155 µg/kg. No parece por tanto que la utilización de esta técnica sesgue de forma significativa el nivel medio de cierre utilizado en la práctica y por tanto no debería tener un impacto importante en la duración de los cierres por este motivo.

### 1.1.2.2. Inhibición de fosfatasas

De forma similar al caso del HPLC-MS, para calcular la toxicidad estimada por esta técnica, que se corresponde con los cierres por bioensayo de ratón, relacionamos la media geométrica del tiempo de muerte

de los ratones con la concentración de ácido okadaico estimada por el test Toxiline-DSP de inhibición de fosfatasa.



**Figura 2. 2** Gráfico Scatchard relacionado la media geométrica de los tiempos de muerte de los ratones en el bioensayo de DSP con los resultados de test de inhibición de fosfatasa

Asumiendo los mismos tiempos de referencia del bioensayo de ratón que en el apartado anterior y utilizando la relación entre el tiempo de muerte y la concentración de ácido okadaico determinada por inhibición de fosfatasa que se muestra en la figura 2.2, puede estimarse que el tiempo teórico de cierre corresponde a una concentración de 157  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y el tiempo encontrado en la práctica, a 159  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . No parece por tanto que, al igual que en el caso del LC/MS, la utilización de esta técnica sesgue de forma significativa el nivel medio de cierre utilizado en la práctica y por tanto tampoco debería tener un impacto relevante en la duración de los cierres.

## 1.2. Impacto en el coste económico derivado de los niveles

### 1.2.1. PSP

#### 1.2.1.1. Escenario de episodios originados por *Gymnodinium catenatum* en las Rías Baixas

##### 1.2.1.1.1. Alargamiento de los días de cierre

###### HPLC Postcolumna

Teniendo en cuenta el hecho de que el nivel medio de cierre es aproximadamente de 1000 y no de 800, y asumiendo una tasa de depuración de  $0.1 \text{ día}^{-1}$ , utilizando esta técnica para el control se produciría un acortamiento de los cierres de 2 días, en el episodio de 2005 de *Gymnodinium catenatum*. Esto supone un acortamiento de un 4% del período de cierre.

###### HPLC Precolumna

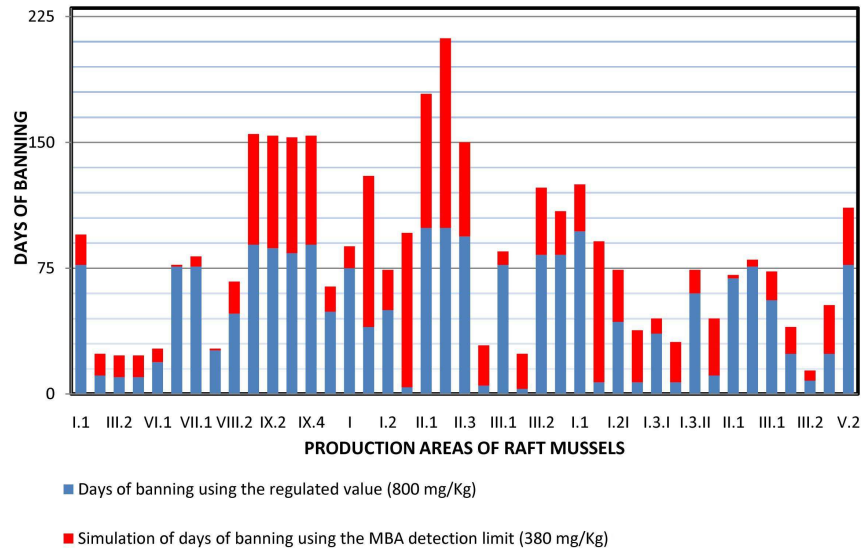
Dado que en este caso el nivel medio de cierre es aproximadamente de 1500 y no de 800 como en el bioensayo de ratón, y asumiendo la misma tasa de depuración que en la técnica anterior, el cierre del episodio estudiado se reduciría en 6 días, lo cual supone un 6% de la duración del mismo.



## Jellett

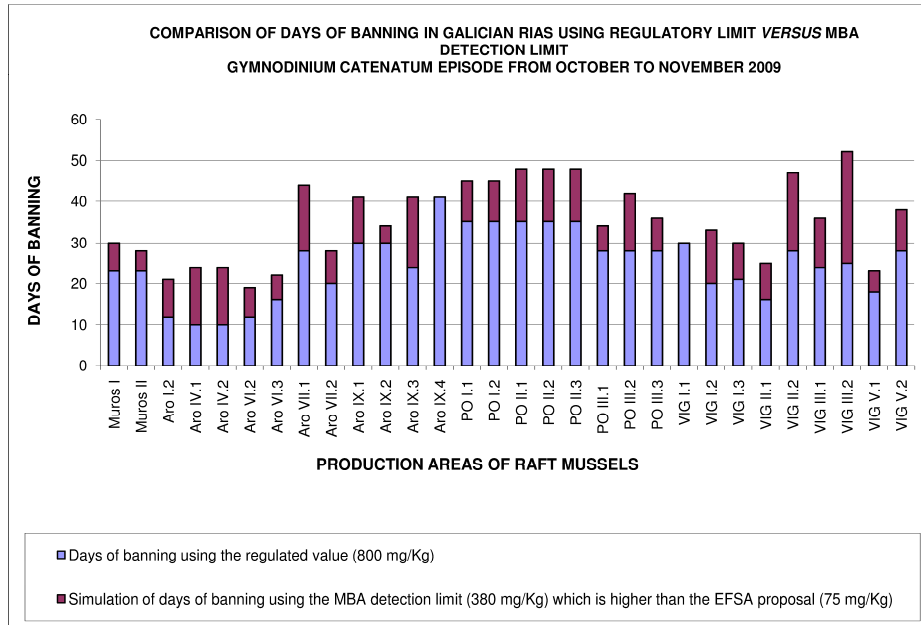
Según los niveles calculados en la sección 1.1., la utilización de esta técnica sin confirmación por otros métodos llevaría a un número elevado de cierres innecesarios. Durante un episodio largo de *Gymnodinium catenatum* (2005-2006) el promedio de días de cierre en las distintas zonas de producción de Galicia fue de 50 días. Asumiendo que esta técnica da resultados positivos por encima de 90 µg eq-STX/kg, el límite de detección del bioensayo de ratón ya comentado, y una tasa de depuración alta para las fases finales de la desintoxicación (0.1 días<sup>-1</sup>), se estima una prolongación de los días de cierre de 47 días, es decir, prácticamente se duplicarían los períodos de cierre actuales.

COMPARISON OF DAYS OF BANNING IN GALICIAN RIAS USING REGULATORY LIMIT AND MBA DETECTION LIMIT.  
GYMNODINIUM CATENATUM EPISODE FROM OCTOBER 2005 TO APRIL 2006



**Figura 2. 3** Alargamiento de los días de cierre si este se produjera en el límite de detección del bioensayo de ratón en lugar de con el nivel actual

En otro episodio de la misma especie, pero notablemente más corto (2009), con 25 días de cierre, en promedio el alargamiento estimado es muy similar al del episodio largo, siendo el valor estimado de 25 días. Se duplica, por tanto el tiempo de cierre.



**Figura 2. 4** Alargamiento de los días de cierre si este se produjera en el límite de detección del bioensayo de ratón en lugar de con el nivel actual, en un episodio de *Gymnodinium catenatum* en 2009

La situación puede ser más grave en el caso de los episodios de *Alexandrium minutum* si no contienen el perfil de toxinas más típico de Galicia, con dominio de OH-GTX, como sucedió en los episodios estudiados durante este proyecto. En ese caso, si se mantiene el límite de detección comentado anteriormente, dos cierres que se produjeron en la Ría de Ares y Betanzos en 2007, y que tuvieron una duración de 18 y 21 días, verían su duración alargada un mínimo de 35 días (en los dos casos), lo cual supondría alargamientos del 198% y del 161%, respectivamente.

#### 1.2.1.1.2. Coste económico del alargamiento

El coste económico es muy difícil de evaluar ya que depende de factores muy diversos, como la generalización de los períodos de cierre y la época del año en la que estos tengan lugar (Ver Anexo I). De cualquier manera, tanto para la técnica de oxidación pre-columna como para la de post-columna, los acortamientos del período de cierre deben ser pequeños y por tanto tener una incidencia muy limitada. Si a ello añadimos que los episodios de toxicidad PSP tienen muy poca incidencia en las Rías Gallegas, con un máximo de un 20% de cierres en contraste con el 100% de la toxicidad DSP (Anexo I), y que un buen número de años no tienen incidencia en absoluto, podemos concluir que los efectos del uso de los niveles de estas dos técnicas son marginales.

En el caso de la técnica de Jellett, la situación es más adversa para la explotación de los recursos, pero, al igual que en las otras dos técnicas, el impacto económico global no debe ser muy alto porque la incidencia de los episodios de PSP es relativamente baja. De todas formas en el caso de los episodios más importantes, no por su frecuencia sino por su intensidad, que se dan en las costas de Galicia, que son los producidos por *Gymnodinium catenatum* la sobreestimación de la concentración de las toxinas producidas por esa especie puede llevar a prolongaciones de los cierres importantes y de distribución geográfica generalizada. Estas son precisamente las condiciones en las que pueden producirse las pérdidas económicas más importantes para el sector.

## 1.2.1.2. Escenario de *Alexandrium minutum* en Ares y Baiona

### **1.2.1.2.1. Alargamiento de los días de cierre**

Este tipo de episodios son notablemente más cortos que los de *Gymnodinium catenatum* y su extensión está notablemente reducida en relación a ellos. Las proliferaciones de *Alexandrium minutum* se dan, sin embargo, con más frecuencia y por tanto los niveles a los que se producen el cierre y la apertura del mercado pueden llegar a cruzarse, en una y otra dirección, en más ocasiones y, por tanto, los niveles concretos del umbral pueden tener una mayor importancia relativa. Es esperable, por tanto, que como proporción del período total de cierre estos niveles tengan menos efecto que en el anterior tipo de episodios pero que, en la medida en que las poblaciones del organismo productor fluctúen en niveles bajos, los cierres en términos relativos puedan incluso superar a los de los episodios de *Gymnodinium catenatum*. En el caso de las técnicas de HPLC con oxidación pre y postcolumna el efecto, que es un acortamiento del período de cierre, no puede ser alto porque la duración de estos períodos es ya de por sí pequeña. En el caso de la técnica, de Jellett, los alargamientos podrían ser considerables, especialmente si los perfiles de toxinas de las especies productoras no incluyen GTX4/1 o neoSTX, tóxicas para las que este test tiene muy poca sensibilidad (v. sección de técnicas utilizables con cambio de niveles permisibles).

### **1.2.1.2.2. Coste económico del alargamiento**

Teniendo en cuenta que los impactos sobre la duración de los cierres son muy reducidos y que además este tipo de episodios están muy localizados y no afectan al conjunto del área de explotación de bivalvos de Galicia, es esperable que no tengan un efecto significativo en el rendimiento económico del cultivo de mejillón (Anexo I), aunque sí a nivel de productor individual.

## 1.2.1.3. Ponderación de los costes con la frecuencia de cada escenario

La frecuencia de los cierres derivados de los dos escenarios, *Alexandrium minutum* y *Gymnodinium catenatum*, es muy similar. Entre 1999 y 2010 se produjeron episodios originados por *Gymnodinium catenatum* en 2000, 2005, 2007 y 2009. De entre ellos, los episodios de los años 2000 y 2007 afectaron a una extensión limitada de las zonas de producción (1-2 rías) y en los otros dos años afectando a prácticamente la totalidad de las zonas de cultivo de mejillón de Galicia. En el mismo período de tiempo tuvieron que realizarse cierres de la explotación por causa de proliferaciones de *Alexandrium minutum* en 2003, 2004, 2007 y 2008, afectando o bien a una parte pequeña de la ría de Vigo, o bien a la parte interna de la ría de Ares y Betanzos, con una incidencia muy reducida, por tanto, sobre el número de bateas afectadas. Aunque con la situación expuesta, podría parecer que el posible efecto de las técnicas debería centrarse en los episodios de *Gymnodinium catenatum*, la aparición de poblaciones de esta especie en concentraciones en el agua que no llegan a producir cierres es mucho más infrecuente que en el caso de *Alexandrium*, por lo que podemos asumir una importancia sólo ligeramente mayor de los episodios de *G. catenatum*.

Como se comentó en las secciones anteriores para cada escenario individualmente, no es esperable que el control mediante las técnicas cromatográficas estudiadas vaya a tener un impacto significativo en el rendimiento del cultivo de mejillón en ninguno de los episodios. Sin embargo, y dependiendo del perfil de toxinas que presente *Alexandrium* el control mediante los kits Jellett, sí podría reducir el rendimiento económico del cultivo, aunque en menor medida de lo que es posible por causa de la toxicidad de tipo diarreico.

## **1.2.2. DSP**

Dado que no se han detectado diferencias en los niveles medios de cierre entre las distintas técnicas empleadas es esperable que no tengan una implicación económica directa. Sin embargo, el número relativamente alto de valores discordantes entre ellas hace que, en caso de que una de ellas se utilice como referencia para autorizar la explotación, puedan darse casos en los que otra técnica estime valores por encima del umbral lo cual llevaría a situaciones en que, con un control de la explotación correcto, hubiese de

interrumpirse la comercialización porque los controles en el mercado realizados con una técnica diferente diesen resultados positivos. Debe sugerirse, por tanto que los controles de mercado en caso de resultados positivos, se contrasten con la misma técnica con la que se hicieron los de explotación.

### 1.3. Impacto sobre el riesgo

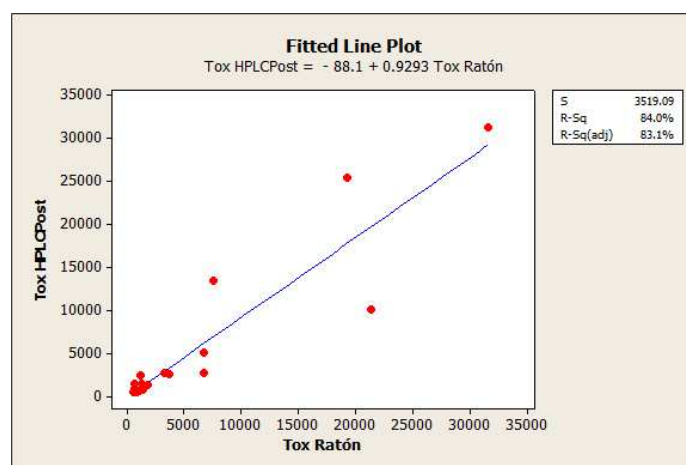
#### 1.3.1. "Falsos negativos" detectados en cada técnica

Cuando se utilizan diversas técnicas para estimar la toxicidad de varias muestras y se conoce la toxicidad exacta de las mismas, si una de las técnicas estima que la toxicidad supera un umbral determinado cuando se sabe que la toxicidad real está por debajo de dicho umbral, el resultado se denomina falso positivo. Si sucede lo contrario es un falso negativo. Dado que no existe la posibilidad de saber los niveles reales de las muestras estudiadas, se asume que los resultados del bioensayo de ratón son los correctos, y por tanto los resultados discrepantes obtenidos con otras técnicas se consideran “falsos positivos”, o bien “falsos negativos”, aunque son únicamente resultados discrepantes de dos técnicas y no fallos de una de ellas.

##### 1.3.1.1. PSP

##### HPLC Postcolumna

La concordancia entre los resultados del HPLC postcolumna y del bioensayo de ratón fue del 75%, con un 50% de falsos positivos y un 18.75% de falsos negativos. Los falsos negativos son ligeramente más frecuentes que los falsos positivos. Sin embargo, resulta claro que no existe una tendencia importante de la técnica a sobreestimar o subestimar los resultados del bioensayo de ratón, por lo cual las técnicas no pueden considerarse estrictamente equivalentes. Estrictamente, resulta imposible aquilatar el riesgo añadido derivado de la adopción de la técnica, ya que se desconoce si la toxicidad medida por el bioensayo de ratón es la real. En caso de que así fuese, con las toxicidades inferidas por esta técnica la explotación de los bivalvos sería más insegura que cuando el control se realiza mediante el bioensayo de ratón. Si hubiese de rebajarse el nivel máximo tolerable para igualar los negativos de la técnica con los del ratón, sería necesario utilizar un nivel máximo permisible de 469µg eq-STX/kg. La concordancia con la otra técnica cromatográfica probada no fue mejor que con el bioensayo de ratón.



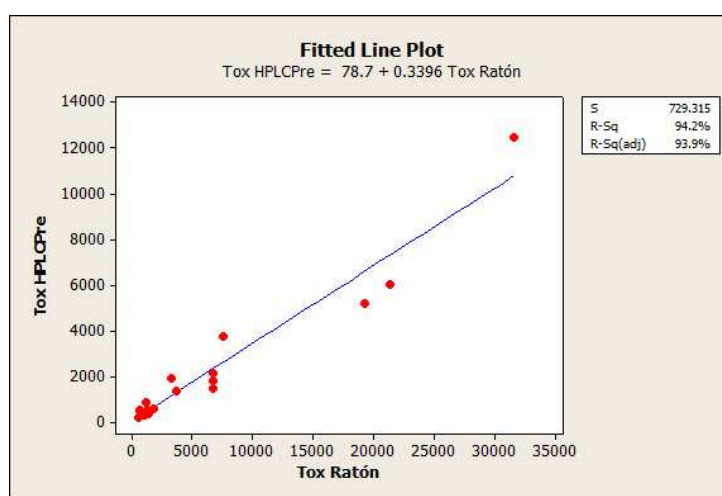
**Figura 2. 5** Relación entre la toxicidad de tipo PSP estimada mediante bioensayo de ratón y HPLC con oxidación postcolumna. Puede observarse una pendiente próxima a 1 y una intersección con los ejes próxima al 0.

## HPLC Precolumna

La concordancia entre los resultados del HPLC-precolumna y del bioensayo de ratón fue del 70%, sin detectarse falsos positivos y con un 37.5% de falsos negativos. La técnica tiene tendencia a subestimar los resultados del bioensayo de ratón a niveles altos, como puede observarse en la regresión entre estas dos toxicidades, en la que el coeficiente de regresión es notablemente inferior a 1. Por esta razón, no se dieron falsos positivos y el número de falso negativos aumentó, en relación al HPLC postcolumna, hasta un 37.5%. La utilización de esta técnica para determinar la toxicidad de los bivalvos es, por tanto, notablemente más insegura que el bioensayo de ratón. A conclusiones similares se ha llegado en un estudio realizado por Rourke et al (2008) que fue publicado durante el desarrollo de este proyecto.

Para evitar los falsos negativos detectados en este estudio, sería necesario fijar un nivel máximo tolerable de más de 1830µg eq-STX/kg lo cual supondría una reducción de más de dos veces el límite del bioensayo de ratón.

La concordancia con la otra técnica cromatográfica probada no fue mejor que con el bioensayo de ratón.

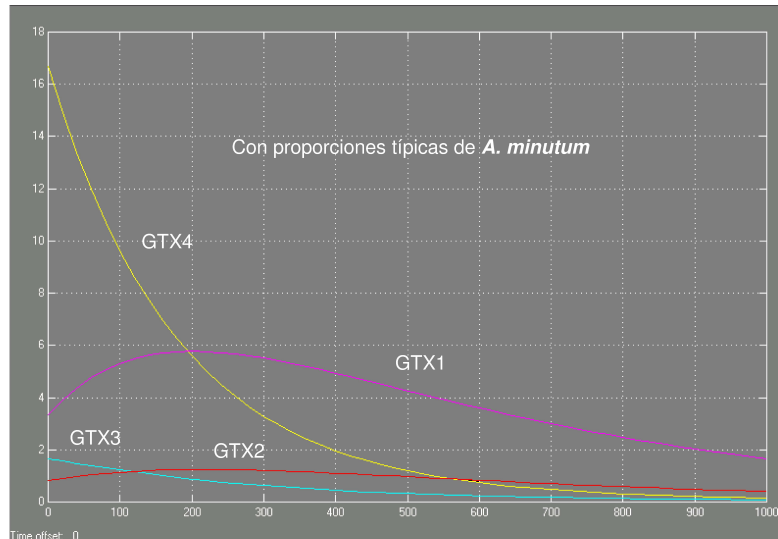


**Figura 2. 6** Relación entre la toxicidad de tipo PSP estimada mediante bioensayo de ratón y HPLC con oxidación postcolumna. Puede observarse una pendiente notablemente inferior a 1 y una intersección con los ejes próxima al 0.

## Tests Jellett

Los tests Jellett en este estudio fueron empleados en episodios de *Gymnodinium catenatum* y *Alexandrium minutum*. No se detectaron falsos negativos, por lo cual, para los episodios de esas especies, en caso de que los perfiles tóxicos no varíen sustancialmente, esta técnica puede ser empleada como método de selección de las muestras que han de ser analizadas por otras técnicas. El número de falsos positivos en episodios de estas especies, sin embargo, es muy alto, haciendo los resultados aportados por esta técnica inviables para el seguimiento una vez que las toxinas son detectadas, como ya se comentó en una sección anterior. Durante el desarrollo del proyecto, se hizo público un estudio de este tipo de tests para la determinación de toxinas PSP en el Reino Unido (CEFAS, 2007) [InformeCefas](#), en el que se concluía que su sensibilidad es mucho menor para la GTX4/1 y la NeoSTX que para la mayor parte de las otras toxinas. Se observaron durante ese estudio un número relativamente elevado de falsos negativos, con un lote determinado pero considerado en buen estado por el fabricante, en muestras en las que las tres toxinas citadas estuvieron implicadas. No sucedió así en muestras naturales. Teniendo en cuenta que en Galicia el perfil de toxinas de *Alexandrium minutum* más habitual está dominado por GTX4 y GTX1, en las proporciones que se dan en la figura 2.7, y teniendo en cuenta que por causa de las transformaciones en el mejillón el perfil debe variar en la forma en que se indica en la misma figura, el uso de estos tests debería dar, como en el estudio del Reino Unido, un número relativamente elevado de falsos positivos. Sin embargo no ha sido así probablemente porque los perfiles encontrados en los mejillones muestreados durante este proyecto estuvieron mucho más segados hacia las

GTX2/3 que lo que podría esperarse de un perfil típico de *Alexandrium minutum*. No hemos podido evaluar en mayor detalle este punto por no disponer de suficientes tests, pero parece claro que su utilización podría suponer un problema importante en caso de proliferaciones en cuyo perfil tóxico dominen la GTX4 y GTX1.



**Figura 2. 7** Simulación de los cambios de toxinas de tipo PSP en el mejillón, partiendo de las proporciones más frecuentes en las poblaciones de *Alexandrium minutum* de Galicia. (Según modelos y parámetros de Blanco et al 2003)

### 1.3.1.2. DSP

#### HPLC-MS

La técnica de HPLC/MS produjo tanto falsos positivos como negativos en relación al bioensayo de ratón, aunque concordó en un 86% de las 153 muestras estudiadas. El hecho de que produzca tanto falsos positivos como negativos indica que esta técnica no es estrictamente equivalente al bioensayo de ratón. En el conjunto de muestras estudiado, el número de falsos negativos (13) excedió al de falsos positivos (8), por lo cual, en promedio se trata de una técnica más permisiva -en cuestión de riesgo de muestras individuales, no de riesgo medio- que el bioensayo de ratón.

En el caso de los falsos negativos, cabe la posibilidad de que el ratón estuviese siendo afectado por sustancias tóxicas por vía intraperitoneal pero no detectadas en el espectrómetro de masas. En este sentido, pudo comprobarse la presencia de pectenotoxinas en bajas concentraciones en algunas de las muestras estudiadas pero esta presencia no es suficiente para explicar los resultados positivos por medio del bioensayo de ratón, por lo que no se puede descartar que otras toxinas no detectadas estén implicadas en las discrepancias.

Los falsos negativos se produjeron en aproximadamente un 12% de los casos. Si se asume que el bioensayo de ratón produce los resultados correctos y que por tanto los falsos negativos de esta técnica son reales y no falsos positivos del bioensayo de ratón, para eliminar estos falsos negativos, sería necesario rebajar los niveles permisibles a 108.6µg eq-OA/kg, en lugar de los 160 utilizados actualmente. En cualquier caso, este límite es notablemente más elevado que el sugerido por EFSA como nivel máximo tolerable.

Los falsos positivos, podrían haberse producido por efectos matriz en la técnica de HPLC-MS, ya que los análisis de esta parte del estudio se hicieron con una técnica de separación en condiciones ácidas, que hemos comprobado que está muy afectada por efectos matriz, fundamentalmente positivos, pero básicamente impredecibles, y que por tanto puede dar estimaciones de ácido okadaico muy superiores a las realmente presentes en el mejillón. En la actualidad existen técnicas una de ellas desarrollada por uno de los equipos que participan en este proyecto, que minimizan el efecto matriz, que de todas formas sigue siendo un problema grave del uso de el HPLC-MS en el control de toxinas.

Tabla 2.2. Tabla de concordancias entre el bioensayo de ratón (MBA) y el HPLC-MS. Se resaltan los “falsos” positivos y los “falsos” negativos.

Rows: MBA	Columns: masas*1.1		
	-	+	All
-	17	8	25
	68.00	32.00	100.00
	4.90	20.10	25.00
+	13	115	128
	10.16	89.84	100.00
	25.10	102.90	128.00
All	30	123	153
	19.61	80.39	100.00
	30.00	123.00	153.00

Cell Contents: Count  
% of Row  
Expected count

### Inhibición de fosfatasas

La técnica de inhibición de actividad de fosfatasas Toxiline-DSP, con detección por fluorescencia, de ZEU Immunotec se comportó, en cuanto a su comparación general con el bioensayo de ratón, cuantitativamente de forma muy similar al HPLC-MS. Produjo tanto falsos positivos como negativos en relación al bioensayo de ratón y, también como esa técnica, concordó en un 86% de las 153 muestras estudiadas. El hecho de que produzca tanto falsos positivos como negativos indica que, también al igual que el HPLC-MS, esta técnica no es estrictamente equivalente al bioensayo de ratón. En el conjunto de muestras estudiado, el número de falsos negativos (15) excedió al de falsos positivos (6), por lo cual, en promedio se trata de una técnica más permisiva que el bioensayo de ratón. Los falsos negativos se produjeron en aproximadamente un 12% de los casos. Para eliminar los falsos negativos, sería necesario rebajar los niveles permisibles a 119 µg eq-OA/kg, en lugar de 160.

Tabla 2.3. Tabla de concordancias entre el bioensayo de ratón (MBA) y el test de inhibición de fosfatasas. Se resaltan los “falsos” positivos y los “falsos” negativos.

Rows: MBA	Columns: Fosfatasas		
	-	+	All
-	19	6	25
	76.00	24.00	100.00
	5.56	19.44	25.00
+	15	113	128
	11.72	88.28	100.00
	28.44	99.56	128.00
All	34	119	153
	22.22	77.78	100.00
	34.00	119.00	153.00

Cell Contents: Count  
% of Row  
Expected count

A pesar de que las características cuantitativas generales de esta técnica y la de HPLC-MS son muy similares, sus discrepancias con el bioensayo de ratón no se dan en las mismas muestras, por lo que hay que descartar que se deban a cuantificaciones incorrectas de la toxicidad DSP por parte del bioensayo. Ambas técnicas coinciden entre ellas en menor grado que cada una con el bioensayo, con un porcentaje de coincidencia del 70%, en lugar de un 86%.

Tabla 2.4. Tabla de concordancias entre el HPLC-MS y el test de inhibición de fosfatasas. Se resaltan los “falsos” positivos y los “falsos” negativos.

Rows: masas\*1.1 Columns:

**Fosfatasa**

	-	+	All	
-	15	15	30	→ FALSOS POSITIVOS
	50.00	50.00	100.00	
	6.67	23.33	30.00	
+	19	104	123	→ FALSOS NEGATIVOS
	15.45	84.55	100.00	
	27.33	95.67	123.00	
All	34	119	153	
	22.22	77.78	100.00	
	34.00	119.00	153.00	

Cell Contents: Count  
% of Row  
Expected count

### 1.3.2. Compuestos no detectados o detectados con baja eficacia

Algunas toxinas o sus derivados no son detectados o lo son pero sus concentraciones son subestimadas sustancialmente. En otros casos, la detección de algunos compuestos requiere su transformación previa a otros que se detectan sin dificultad, lo cual aumenta la complicación de las determinaciones y aumenta el error de las determinaciones al incluir más procesos. Los casos principales se comentan a continuación.

#### 1.3.2.1. Ésteres por fosfatasa y LC/MS

Los ésteres han de cuantificarse por medio de una hidrólisis alcalina ya que, al menos en las soluciones utilizadas actualmente en los tests de inhibición de fosfatasa, no tienen actividad inhibitoria, y no existen patrones para HPLC-MS. Adicionalmente la complejidad de las mezclas de posibles ésteres, que además presumiblemente tienen diferentes potencias tóxicas dependiendo de que el carboxilo esté esterificado o no (Holmes et al 1990, Hu et al 1992, apoyado por las observaciones de Huhn et al 2009, sobre las partes de la molécula implicadas en la interacción con las proteínas fosfatasa), es muy alta (Torgersen et al 2008), con lo que el análisis de las toxinas presentes en las muestras y su conversión a toxicidad se complicaría sobremanera. La posibilidad de que haya ésteres más tóxicos que las toxinas libres parece remota, al igual que la posibilidad de que la eficacia de la hidrólisis no sea prácticamente completa, por lo que no parece que pueda haber subestimaciones importantes de la toxicidad por medio de la hidrólisis. El problema, en todo caso, es el mismo para las dos técnicas. Puede suceder, sin embargo, que si la toxicidad de los ésteres carboxílicos para el hombre es sustancialmente menor que la de los ácidos libres, al hacer la cuantificación por medio de la hidrólisis se esté sobreestimando la toxicidad real de las muestras, lo cual aumentaría los márgenes de seguridad y no representaría un problema para la salud pública, pero reduciría los períodos en los que la comercialización de los bivalvos es posible, aumentando el impacto de los episodios tóxicos sobre los productores de mejillón.

#### 1.3.2.2. STX y Neo-STX en PSP por medio de HPLC con oxidación precolumna

En este estudio hemos encontrado una mala detección de STX y NeoSTX con la técnica de oxidación precolumna. Los resultados obtenidos se comprobaron en otros laboratorios confirmando que, en las muestras analizadas, se trató de un problema de la técnica en sí y no de un problema particular de un laboratorio. Últimamente, se ha sugerido que los cartuchos de purificación por SPE pueden ser los responsables de esta falta de detección y que dependiendo del fabricante o quizás incluso del lote podría presentarse este problema o no. Adicionalmente se han encontrado, durante un estudio coordinado por el Laboratorio Comunitario de Referencia en Biotoxinas Marinas, algunos problemas con la respuesta de las GTX1/4 y la NeoSTX (CRLMB 2009)

#### 1.3.2.3. Neo-STX y OH-GTX en Jellett

Como ya se comentó en un apartado anterior, varios estudios realizados recientemente mostraron que los tests Jellett son poco sensibles a las OH-GTX (fundamentalmente 1 y 4) y a la NeoSTX. No hemos podido



comprobar este extremo al no disponer de suficientes tests, pero, de ser así, supone un riesgo importante cuando se producen desarrollos de *Alexandrium minutum*, en caso de que tengan sus perfiles tóxicos más frecuentes en Galicia.

## 1.4. Impacto sobre la capacidad de trabajo en control

Las distintas técnicas que se pueden emplear para llevar a cabo el seguimiento de la toxicidad en los moluscos bivalvos cultivados tienen un notable impacto sobre los propios programas de control y su efectividad. Los dos aspectos probablemente más importantes de las técnicas son su coste y su operatividad general. Aparte de estos, cada técnica tiene una serie de peculiaridades que pueden condicionar el flujo de trabajo o que confieren riesgos para la operativa o para la fiabilidad de las estimaciones obtenidas.

Hemos abordado los dos primeros aspectos con un estudio detallado del coste por muestra de cada técnica y calculando la hora a la que los resultados definitivos de una tanda de control podrían estar disponibles. Dado que ambos pueden variar sustancialmente con el volumen de trabajo, hemos centrado los cálculos en dos escenarios que consideramos representativos. El primero de ellos simula un laboratorio de control en el que se hacen determinaciones de toxinas de forma esporádica, intercaladas con otras actividades de control. Hemos fijado en este escenario un flujo de trabajo de 20 determinaciones al mes, distribuidas en 5 por semana y concentradas en un único día de la semana. El segundo escenario simula un programa de control de biotoxinas en la que la dedicación del personal y del material es completa a esta actividad. En este caso el flujo de trabajo se fijó en 100 determinaciones a la semana (5200/año), que es aproximadamente el flujo de trabajo del sistema de control de Galicia que lleva a cabo INTECMAR. En la mayor parte de las técnicas se ha asumido que los análisis únicamente se pueden comenzar en cuatro días de la semana, porque de lo contrario la finalización de los análisis y la preparación de los resultados requeriría 6 días de trabajo a la semana.

Finalmente, en una sección adicional se han descrito los principales inconvenientes y algunas ventajas encontradas en cada una de las técnicas contempladas en este estudio.

### 1.4.1. PSP

#### 1.4.1.1. Análisis del coste de los ensayos de ratón

##### 1.4.1.1.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)

Coste de instalaciones (jaulas, animalario,...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	% utilización	Coste/muestra €
Balanza	10	3000	20	0.25
Centrifuga	10	40000	20	3.33
Batidora/trituradora	1	180	20	0.15
Placa Calefactora	5	500	20	0.08
Congelador	8	600	20	0.06
Nevera	8	350	20	0.04
Material Disección	1	230	20	0.19
Pipetas 5 mL	1	209	20	0.17
Dosificador 50 ml	1	640	20	0.53
Dosificador 10 ml	1	220	20	0.18
Animalario (módulo)	8	18000	50	4.69
<b>Total</b>		<b>63929</b>		<b>9.69</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
Módulo animalario	5	720	3.00
Centrifuga	8	800	3.33
<b>Total</b>		<b>1520</b>	<b>6.33</b>

Coste de fungibles asociados a los animales (ratones, comida...)

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Lecho	1400	5.83
Pienso	1300	5.42
Desinfectantes	90	0.38
Contenedores de residuos	150	0.63
Ratones (pedidos/año)	3500	14.58
Biberones, jaulas	160	0.67
<b>Total</b>	<b>6600</b>	<b>27.5</b>

Costes salariales estimados por categorías

Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliar	26000	0.24
Analista	31621	0.29
Licenciado	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Actividades bienestar animal	Auxiliar	2	0.48
<b>Total</b>			<b>0.48</b>

## Coste de preparación de muestras

### Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material y calibración de equipos	Analista	3	0.87
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	18	4.32
Secado+ Triturado+pesada	Analista	5	1.45
Ebullición	Analista	15	4.35
Enfriado	Analista	12	3.48
Enrasado+centrifugado	Analista	12	3.48
<b>Total</b>			<b>20.11</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	46	0.19
Varillas vidrio	118	0.49
Probetas (250 mL)	50	0.21
Tubos de centrifuga (16x100 mm)	20	0.08
pipetas pasteur	50	0.21
Mascarillas Carbón	125	0.52
Droguería	100	0.42
<b>Total</b>	<b>509</b>	<b>2.12</b>

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acido Clorhídrico 37 %	28	0.12
Papel parafilm (75 m)	36	0.15
Tiras de pH	73	0.30
STX estándar	360	1.50
Resma papel	32	0.13
Guantes nitrilo	60	0.25
Guantes latex	250	1.04
<b>Total</b>	<b>839</b>	<b>3.50</b>

### Coste por análisis (jeringuillas, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Inoculación ratones (1 muestra)	Licenciado	12	4.92
<b>Total</b>			<b>4.92</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Jeringas insulina	50	0.21
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>0.21</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Eliminación biosanitarios	355	1.48
Contenedores de residuos	72	0.30
<b>Total</b>	<b>427</b>	<b>1.78</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	% dedicación	Coste/muestra' €
Actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
Revisión e informes	Licenciado	2	100	0.82
<b>Total</b>				<b>1.86</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92
Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

## Coste total

<b>Personal</b>	<b>27.37</b>
<b>Material y otros</b>	<b>56.12</b>
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>83.49</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>20037.75</b>
----------------------------	-----------------

#### 1.4.1.1.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

Coste de instalaciones (jaulas, animalario,...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
Balanza	10	1100	0.02
Centrífuga	10	40000	0.77
pH-metro	10	600	0.01
Baño refrigeración	10	1200	0.02
Instalaciones animalario	8	35000	0.84
Batidora/Trituradora	1	180	0.03
Placa calefactora	5	500	0.02
Congelador	8	600	0.01
Nevera	8	350	0.01
Material Disección	1	230	0.04
Impresora de etiquetas	5	960	0.04
Pipeta dosificadora	5	320	0.01
Pipeta 1 ml	5	318	0.01
Pipeta 100 ul	5	200	0.01
Lavavajillas	10	3500	0.07
Lavajaulas	10	30000	0.58
Equipo purificación de agua	10	17000	0.33
<b>Total</b>		<b>132058</b>	<b>2.83</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
Animalario	5	1750	0.34
Centrífuga	8	3200	0.62
Purificador agua	10	1700	0.33
<b>Total</b>		<b>6650</b>	<b>1.28</b>

Coste de fungibles asociados a los animales (ratones, comida...)

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Lecho	3484	0.67
Pienso	3250	0.63
Desinfectantes	300	0.06
Contenedores de residuos	504	0.10
Progenitores cría	1700	0.33
Ratones (pedidos/año)	4500	0.87
Biberones, jaulas	800	0.15
<b>Total</b>	<b>14538</b>	<b>2.80</b>
<b>Costes salariales estimados por categorías</b>		

Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliar	26000	0.24
Analista	31621	0.29
Licenciado	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Actividades bienestar animal	Auxiliar	10	2.40
Actividades bienestar animal	Licenciado	3	1.23
<b>Total</b>			<b>3.63</b>

### Coste de preparación de muestras

#### Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación material+Calibración equipos	Analista	3	0.87
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	9	2.16
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Analista	10	2.90
Ebullición	Analista	15	4.35
Enfriado	Analista	12	3.48
Enrasado+centrifugado	Analista	12	3.48
<b>Total</b>			<b>19.40</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	92	0.02
Varillas vidrio	235	0.05
Probetas (250 mL)	340	0.07
Tubos de centrifuga (16x100 mm)	90	0.02
Matraces fondo redondo	472	0.09
Gradillas + pipetas	200	0.04
Mascarillas Carbón	580	0.11
Droguería	800	0.15
Filtro de papel	560	0.11
Otros	400	0.08
Detergente	255	0.05
<b>Total</b>	<b>4024</b>	<b>0.77</b>

#### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acido Clorhídrico 37 %	228	0.04
Papel parafilm (75 m)	144	0.03
Tiras de pH	1035	0.20

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
STX estándar	540	0.10
Resma papel	198	0.04
Guantes nitrilo	400	0.08
Guantes latex	1100	0.21
<b>Total</b>	<b>3645</b>	<b>0.70</b>

#### Coste por análisis (jeringuillas, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Inoculación ratones (1 muestra)	Licenciado	12	4.92
<b>Total</b>			<b>4.92</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Jeringas insulina	1000	0.19
<b>Total</b>	<b>1000</b>	<b>0.19</b>

#### Coste post-análisis

##### Eliminación de residuos

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Eliminación biosanitarios	572	0.11
Contenedores de residuos	120	0.02
<b>Total</b>	<b>692</b>	<b>0.13</b>

##### Elaboración de resultados-control de calidad (coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	Coste/muestra* €
Actividades de acreditación	Licenciado	2	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.87
Revisión e informes	Licenciado	2	0.82
<b>Total</b>			<b>2.51</b>

##### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06
Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

## Coste total

Personal	30.46
Material y otros	8.95
Coste total por muestra (€)	39.41

Coste total por año	204944.35
---------------------	-----------

### 1.4.1.1.3. Hora de obtención de los últimos de resultados con bioensayo de ratón en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

En un escenario de un programa de control, con 20 determinaciones diarias (100 muestras/semana), asumiendo que las muestras llegan al laboratorio a las 12 de la mañana terminarían de extraerse a las 14h. La inyección de 60 ratones supone 40 minutos y el período de observación, que es de 60 minutos, prolongaría el final del ensayo ese mismo tiempo a partir de la inyección del último ratón, suponiendo todo el proceso conjuntamente 100 minutos. La preparación del informe de ensayo requiere 60 minutos adicionales, por lo que los resultados oficiales se obtendrían 335 min después de la recepción de las muestras, es decir a las, 17:45 h. La aparición de un número elevado de resultados positivos podría retrasar esta hora hasta unos 45 min adicionales, aunque lo habitual es que no sobrepase los 15..

En un escenario de determinaciones esporádicas, con 5 determinaciones en un día de la semana (20 muestras/mes), y asumiendo que las muestras llegan al laboratorio a la misma hora (12 h), la extracción de las muestras supondría 60 minutos, la inyección otros 15, la observación adicional del último ratón 60 min y la preparación del informe de ensayo 30 minutos. Por lo cual los resultados oficiales podrían estar disponibles en 2:45h, es decir, a las 14:45h. Al igual que en el escenario anterior, la aparición de un número elevado de resultados positivos podría retrasar esta hora hasta unos 45 min adicionales

### 1.4.1.1.4. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del bioensayo de ratón

El principal problema para el uso del bioensayo de ratón es la necesidad de sacrificar y producir sufrimiento a los ratones sobre los que se efectúa el bioensayo. El rechazo social del uso de animales en la experimentación es alto, lo que conlleva una notable presión para la eliminación de este tipo de ensayos, que a su vez han desembocado en recomendaciones de la Unión Europea sobre bienestar animal (Commission Recommendations 2007/526/EC de 18 de junio).

Resulta necesario disponer de personal entrenado para realizar la inyección intraperitoneal de los extractos, aunque la dificultad del entrenamiento no es alta y puede prepararse personal para desarrollar esta función en un período de tiempo breve.

Los resultados de los ensayos tienen una variabilidad relativamente alta, derivada principalmente de las diferencias interindividuales de sensibilidad de los ratones a las toxinas, aunque se conoce que otros aspectos, como la hora de inyección, por ejemplo, pueden afectar a la respuesta del ratón y, por tanto, contribuir a incrementar la variabilidad citada.

La respuesta es inespecífica en caso de que no se dedique tiempo a la observación de los síntomas que presenta el ratón y que permiten distinguir entre actividades de diferentes grupos de toxinas.

### 1.4.1.2. Análisis del coste de los análisis por HPLC con oxidación precolumna

#### 1.4.1.2.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)



## Coste de instalaciones

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	% utilización	Coste/muestra €
Balanza	10	3200	20	0.27
Centrifuga	10	40000	20	3.33
pH-metro	10	600	20	0.05
Batidora/Trituradora	1	180	20	0.15
Equipo SPE Automático	10	45000	20	3.75
Equipo HPLC-FD + software	10	75000	20	6.25
Nevera	10	350	20	0.03
Congelador	10	600	20	0.05
Material disección	1	230	20	0.19
Bombas de vacío y equipos de filtración	10	800	20	0.07
Placa Calefactora	10	500	20	0.04
Pipetas automáticas 0,5-200 ul	1	585	20	0.49
Pipetas automáticas 200 1000 ul	1	232	20	0.19
<b>Total</b>		<b>167277</b>		<b>14.86</b>

## Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
SPE automático	10	900	3.75
HPLC	10	1500	6.25
Centrifuga	8	6	0.02
<b>Total</b>		<b>2406</b>	<b>10.02</b>

## Coste de fungibles asociados al mantenimiento

Concepto	Coste €	Coste/muestra €
Calibrantes pHmetro	70	0.29
Electrodo pH micro	540	2.25
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>0.29</b>

## Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliar	26000	0.24
Analista	31621	0.29
Licenciado	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación material+ calibración equipos	Auxiliar	1.3	0.31
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	15	3.60
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Auxiliar	3	0.72
Extracción toxinas+limpieza	Analista	11.5	3.34
Ebullición	Analista	15	4.35
Enfriado	Analista	12	3.48
Enrasado+centrifugado	Analista	12	3.48
Ajuste pH	Analista	3.3	0.96
Hidrólisis	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>23.55</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	32	0.13
Filtros y jeringas para la clarificación	360	1.50
Viales y gradillas	864	3.60
Ampollas y reactivos para hidrólisis	144	0.60
Calibrantes pH-ímetro	52	0.22
Tubos centrifuga	177	0.74
Etiquetas	60	0.25
<b>Total</b>	<b>1689</b>	<b>7.04</b>

## Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acido acético glacial	6	0.03
Papel parafilm	9	0.04
Papel para escurrido y desconchado	25	0.10
Guantes nitrilo	24	0.10
Guantes latex	66	0.28
Acido peryodico	4	0.02
NaOH	6	0.03
Agua oxigenada	6	0.03
Formiato amónico 0,3 M (99%)	56	0.23
Agua HPLC	240	1.00
<b>Total</b>	<b>441</b>	<b>1.84</b>

Coste por análisis (columnas, reactivos, filtros, viales, cartuchos, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Oxidación + filtración	Analista	4	1.16
Acondicionamiento HPLC preparación fases	Analista	6	1.74
Preparación de patrones	Analista	2	0.58
Supervisión cromatografía	Analista	12	3.48
Supervisión de cromatografía	Licenciado	5	2.05
<b>Total</b>			<b>9.01</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €	Coste/muestra* €
Acetonitrilo hipergrado		216	0.90
Metanol gradiente		13	0.05
Hidrógeno fosfato disódico		10	0.04
Acetato amónico		11	0.05
HCl 1 M		5	0.02
Columnas SPE C18		1124	4.68
Columnas SPE Intercambio cat		490	2.04
Columnas cromatográfica		696	2.90
Guantes nitrilo (100)		34	0.14
Materiales de referencia		570	2.38
Lámparas de fluorímetro		312	1.30
Agua calidad HPLC (100mL/muestra)		240	1.00
Otros		9	0.04
<b>Total</b>		<b>3728</b>	<b>15.54</b>

Coste post-análisis

#### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/número	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	42L	0.50
Recipientes viales		0.50
Recipientes disolventes		0.50
<b>Total</b>		<b>1.50</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	% dedicación	Coste/muestra* €
Interpretación de resultados	Analista	15	100	4.35
Supervisión de Resultados	Analista	5	100	1.45
Informe de ensayo	Licenciado	5	100	2.05
Actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
<b>Total</b>				<b>8.89</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92
Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

### Coste total

Personal	41.45
Material y otros	56.09
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>97.54</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>23409.00</b>
----------------------------	-----------------

### 1.4.1.2.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

#### Coste de instalaciones

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
Balanza	10	3200	0.06
Centrífuga	10	40000	0.77
pH-metro	10	600	0.01
Batidora/Trituradora	1	180	0.03
2 Equipo SPE Automático	10	90000	1.73
2 Equipos HPLC-FD + software	10	150000	2.88
Nevera	10	350	0.01
Congelador	10	600	0.01
Material disección	1	230	0.04
Impresora de etiquetas	5	960	0.04

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
2 Bombas de vacío y equipos de filtración	10	1600	0.03
Placa Calefactora	10	500	0.01
Pipetas automáticas 0,5-200 ul	1	585	0.11
Pipetas automáticas 200 1000 ul	1	232	0.04
Lavavajillas de laboratorio	10	8500	0.16
Equipo purificación de agua	10	30000	0.58
<b>Total</b>		<b>327537</b>	<b>6.53</b>

#### Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
SPE automático	10	9000	1.73
HPLC	10	15000	2.88
Equipo de purificación de agua	10	3000	0.58
Centrífuga	8	3200	0.62
<b>Total</b>		<b>30200</b>	<b>5.81</b>

#### Coste de fungibles asociados al mantenimiento

Concepto	Coste €	Coste/muestra €
Calibrantes pHmetro	70	0.01
Electrodo pH micro	540	0.10
<b>Total</b>	<b>610</b>	<b>0.12</b>

#### Coste de preparación de muestras

##### Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación material+ calibración equipos	Analista	3	0.87
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	9	2.16
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Auxiliar	10	2.40
Extracción toxinas+limpieza	Analista	11.5	3.34
Ebullición	Analista	15	4.35

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Enfriado	Analista	12	3.48
Enrasado+centrifugado	Analista	12	3.48
Ajuste pH	Analista	3.3	0.96
Hidrólisis	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>24.35</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	92	0.02
Varillas vidrio	235	0.05
Probetas (250 mL)	340	0.07
Tubos centrífuga	440	0.08
Viales y gradillas *	13000	1.25
Filtros y jeringas para la clarificación	6760	1.30
Ampollas y reactivos para hidrólisis	3120	0.60
Mascarillas Carbón	580	0.11
Droguería	800	0.15
Etiquetas	60	0.01
Guantes nitrilo	400	0.08
Guantes latex	1100	0.21
Viales almacenamiento (14 ml)	92	0.02
<b>Total</b>	<b>27019</b>	<b>3.95</b>

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acido acético glacial	102	0.02
Papel parafilm (75 m)	144	0.03
Papel para escurrido y desenchado	416	0.08
Guantes nitrilo	400	0.08
Guantes latex	1100	0.21
Acido peryodico	62	0.01
NaOH	100	0.02
Agua oxigenada	102	0.02
Formiato amónico 0,3 M (99%)	928	0.18
<b>Total</b>	<b>3354</b>	<b>0.65</b>

Coste por análisis (columnas, reactivos, filtros, viales,...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Oxidación+filtrado	Analista	4	1.16
Acondicionamiento HPLC preparación fases	Analista	12	3.48
Preparación de patrones	Analista	2	0.58
Supervisión cromatografía	Analista	12	3.48
Supervisión de cromatografía	Licenciado	5	2.05
<b>Total</b>			<b>10.75</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €	Columna1
Acetonitrilo hipergrado		3600	0.69
Metanol gradiente		210	0.04
Hidrógeno fosfato disódico		162	0.03
Acetato amónico		190	0.04
HCl 1 M		76	0.01
Columnas SPE C18		18730	3.60
Columnas SPE Intercambio cat		8160	1.57
Columnas cromatográfica		11600	2.23
Guantes nitrilo (100)		562	0.11
Materiales de referencia		9500	1.83
Lámparas de fluorímetro		5200.0	1.00
Otros		150	0.03
<b>Total</b>		<b>58140</b>	<b>11.18</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/número	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	420L	0.12
Recipientes viales		0.02
Recipientes disolventes		0.07
<b>Total</b>		<b>0.20</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Interpretación de resultados	Analista	15	4.35
Supervisión de resultados	Analista	5	1.45
Informe de ensayo	Licenciado	5	2.05
Informes y actividades de acreditación	Licenciado	2	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.87
<b>Total</b>			<b>9.54</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06
Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

## Coste total

Personal	44.64
Material y otros	28.68
Coste total por muestra (€)	73.32

Coste total por año	381279.40
---------------------	-----------

### 1.4.1.2.3. Hora de obtención de los últimos de resultados, con HPLC-precolumna en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

Es prácticamente imposible calcular la hora de obtención de los últimos resultados con la determinación por medio de HPLC con oxidación precolumna, ya que dependiendo del perfil tóxico hay que llevar a cabo distinto número de oxidaciones, purificaciones y análisis. Tal como se utilizó el método en nuestro estudio, con purificaciones y oxidaciones llevadas a cabo manualmente, su aplicación es completamente imposible en un programa de control, ya que no resulta realista analizar más de 7-8 muestras/día y se requeriría analizar 25. Con un método de purificación online recientemente descrito (Turner et al 2009), los autores afirman que pueden realizarse hasta 24 muestras/día, en cuyo caso, utilizando dos equipos HPLC completos y asumiendo la llegada de las muestras al laboratorio a las 12 de la mañana, la duración de los procesos de oxidación haría que la mayor parte de las inyecciones cromatográficas tuviesen que realizarse a lo largo de la noche y, por tanto, que el procesado de los datos obtenidos tuviese que comenzarse al inicio de la jornada laboral del día siguiente. Teniendo en cuenta que la interpretación y supervisión de los resultados y la preparación del informe de ensayo requieren 25 minutos por muestra, en el escenario de 100 muestras por semana, que requiere el análisis de 25 muestras día, podrían necesitarse 10h 30 min adicionales para disponer de los resultados, que por consiguiente estarían disponibles aproximadamente a las 18:15h del día siguiente a la recepción de las muestras.

Como ya comentamos, esta técnica requiere distinto número de oxidaciones y determinaciones cromatográficas con distintos perfiles tóxicos en las muestras. Es decir, en principio, en muchos casos, no se requeriría llevar a cabo todas las determinaciones para las que acabamos de calcular el tiempo necesario. Sin embargo, en la dinámica de un programa de control en el que las inyecciones cromatográficas comienzan por la tarde o por la noche, es operativamente imposible llevar a cabo el proceso de selección de los procedimientos a realizar mediante el examen de los resultados que se van obteniendo. Por esta razón deben realizarse todos los procedimientos necesarios para obtener la cuantificación de las muestras asumiendo que el perfil tóxico es el más complejo. Si bien no es posible reducir el tiempo en el número de muestras analizadas si se pueden excluir en el proceso de interpretación de los resultados ya que dependiendo del perfil tóxico podría no ser necesario procesar buen número de cromatogramas llevando a que las 10h:30min de procesado de cromatogramas estimadas pudieran reducirse sustancialmente.

En el caso de un escenario más reducido (5 muestras/día) los resultados podrían aportarse en las últimas horas del mismo día o en las primeras horas del día siguiente.

### 1.4.1.2.4. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del HPLC precolumna

Los problemas principales del uso de esta técnica surgen de dos hechos: a) que requiere varios tratamientos (hidrólisis y oxidaciones) y varias purificaciones con diferentes cartuchos de extracción en fase sólida; y b) que no se separan directamente las toxinas sino sus productos de oxidación de los cuales algunas toxinas producen varios, que además se comparten (total o parcialmente) con otras toxinas.



El primero de estos aspectos hace que la técnica resulte cara, que requiera mucho tiempo cuando todos los tratamientos se realizan y que requiera la interactividad con el desarrollo de los análisis si se quiere optimizar el número de tratamientos realizados al perfil tóxico de las muestras.

El segundo de los aspectos, hace que el tiempo requerido para procesar las muestras sea alto, ya que habitualmente para obtener los resultados de una muestra hay que examinar varios cromatogramas y utilizar varios picos cromatográficos y sus proporciones para poder determinar la concentración de cada toxina. Algunas toxinas además son prácticamente indistinguibles lo que hace que haya de usarse para el cálculo de toxicidad la potencia de la más tóxica, con la consiguiente sobreestimación de la misma.

Otros problemas son comunes al resto de las técnicas cromatográficas, siendo el principal la imposibilidad de llevar a cabo un buen número de determinaciones en paralelo, ya que el número de muestras que se pueden hacer simultáneamente está limitado al número de equipos disponibles y al personal técnico preparado.

El grado de preparación de los técnicos es notablemente superior al requerido para el bioensayo de ratón o la técnica de Jellett, lo que complica considerablemente la operativa y/o multiplica el coste de los programas de control. Algunos de estos aspectos serán tratados en más detalle al relatar los inconvenientes de la técnica de HPLC-MS/MS para la determinación de toxinas lipofílicas.

#### 1.4.1.3. Análisis del coste de los análisis por HPLC/postcolumna

##### 1.4.1.3.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)

###### Coste de equipos e instalaciones

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	% utilización	Coste/muestra €
Balanza	10	3000	20	0.25
Centrífuga	10	40000	20	3.33
pHmetro	10	600	20	0.05
Batidora/Trituradora	1	180	20	0.15
HPLC-FD con sistema de oxidación postcolumna	10	80000	20	6.67
Nevera	10	350	20	0.03
Congelador	10	600	20	0.05
Material disección	1	230	20	0.19
Bomba de vacío y equipos de filtración	10	800	20	0.07
Placa Calefactora	10	500	20	0.04
Pipeta automática volumen grande	10	318	20	0.03
Pipetas automáticas 0,5-200 ul	1	585	20	0.49
Pipetas automáticas 200 1000 ul	1	232	20	0.19
<b>Total</b>		<b>127395</b>		<b>11.54</b>

###### Coste mantenimiento equipos e(incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
HPLC	10	1600	6.67
Centrífuga	8	640	2.67
<b>Total</b>		<b>2240</b>	<b>9.33</b>

## Coste de fungibles asociados al mantenimiento

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Calibrantes pH-ímetro	38	0.16
Fungibles HPLC (coil, check valves,...)	600	2.50
Electrodo pH micro	540	2.25
<b>Total</b>	<b>1178</b>	<b>4.91</b>

## Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliar	26000	0.24
Analista	31621	0.29
Licenciado	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra' €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	9	2.16
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Auxiliar	10	2.40
Clarificación y etiquetado	Analista	11	3.19
Ajuste pH	Analista	3.3	0.96
Hidrólisis	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>12.03</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	32	0.13
Filtros y jeringas para la clarificación	360	1.50
Viales y gradillas	864	3.60
Ampollas y reactivos para hidrólisis	144	0.60
Calibrantes pH-ímetro	52	0.22
Tubos centrifuga	177	0.74
Agua calidad HPLC (300mL/muestra)	720	3.00
Etiquetas	60	0.25
<b>Total</b>	<b>2409</b>	<b>10.04</b>

## Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acido acético glacial	6	0.03
Papel parafilm	9	0.04
Tiras de pH	62	0.26

Papel para escurrido y desconchado	25	0.10
Guantes nitrilo	24	0.10
Guantes latex	66	0.28
NaOH	6	0.03
Agua HPLC	240	1.00
<b>Total</b>	<b>438</b>	<b>1.82</b>

Coste por análisis (columnas, reactivos, filtros, viales, cartuchos, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Preparar Fases y acondicionar el HPLC (primer y segundo isocráticos)	Analista	24	6.96
ISOCRÁTICO 1 <sup>1</sup> :			
- Acondicionamiento con muestra	Analista	6	1.74
- Inyección de patrones para calibración (2 rectas de 4 puntos)	Analista	24	6.96
- Inyección de 10 muestras, (5 crudas y 5 hidrolizadas)	Analista	30	8.70
ISOCRÁTICO 2 <sup>1</sup> :			
- Acondicionamiento con muestra	Analista	6	1.74
- Inyección de patrones para calibración (2 rectas de 4 puntos)	Analista	24	6.96
- Inyección de 10 muestras, (5 crudas y 5 hidrolizadas)	Analista	30	8.70
Limpieza de HPLC y columna	Analista	6	1.74
<b>Total</b>			<b>43.50</b>

<sup>1</sup>Se asume que el 50% del tiempo de análisis puede dedicarse a otras tareas

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Reactivos para la reparación de fases móviles		
- Ácido Acético (glacial) 100% anhidro p.a.	4.80	0.02
- Amoníaco en solución 25% p.a.	4.80	0.02
- Acetonitrilo (HPLC Grade S)	120.00	0.50
- Ácido Fosfórico min. 85% p.a.	14.00	0.06
- Ácido Periódico PA-ACS.	96.00	0.40
- Ácido 1-Octanosulfónico sal sódica	240.00	1.00
- Hidróxido sódico	14.00	0.06
- Agua calidad HPLC (200mL/muestra)	480.00	2.00
Lámpara de fluorímetro	500.00	2.08
Columna (200 muestras)	300.00	1.25
Precolumnas (200 inyecciones)	100.00	0.42
Materiales de referencia <sup>1</sup>	500.00	2.08
<b>Total</b>	<b>2373.60</b>	<b>9.89</b>

Coste post-análisis

#### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/númer	Coste/muestra €
----------	---------------	-----------------

Eliminación de residuos	42L	0.05
Recipientes		0.05
Transporte		0.02
<b>Total</b>		<b>0.12</b>

#### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	% dedicación	Coste/muestra* €
Interpretación y reanálisis de cromatogramas	Licenciado	3	100	1.23
Actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
Revisión e informes	Licenciado	2	100	0.82
<b>Total</b>				<b>3.09</b>

#### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92
Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

#### Coste total

Personal	58.61
Material y otros	52.65
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>111.26</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>26703.46</b>
----------------------------	-----------------

#### 1.4.1.3.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

#### Coste de instalaciones

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
Balanza	10	1000	0.02
Centrífuga	10	40000	0.77
pHmetro	10	600	0.01
Batidora/Trituradora	1	180	0.03
3 HPLC-FD con sistema de oxidación postcolumna	10	240000	4.62
Nevera	10	350	0.01

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
Congelador	10	600	0.01
Material disección	1	230	0.04
Impresora de etiquetas	5	960	0.04
2 Bombas de vacío y equipos de filtración	10	1600	0.03
Placa Calefactora	10	500	0.01
Pipeta automática volumen grande	10	318	0.01
Pipetas automáticas 0,5-200 ul	1	585	0.11
Pipetas automáticas 200 1000 ul	1	232	0.04
Lavavajillas de laboratorio	10	8500	0.16
Equipo purificación de agua	10	30000	0.58
<b>Total</b>		<b>325655</b>	<b>6.49</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste/año €	Coste/muestra €
HPLCs	10	24000	4.62
Equipo Purificación de Agua	10	3000	0.58
Centrífuga	8	3200	0.62
<b>Total</b>		<b>30200</b>	<b>5.81</b>

Coste de fungibles asociados al mantenimiento

Concepto	Coste €	Coste/muestra €
Calibrantes pHmetro	70	0.01
Electrodo pH micro	540	0.10
<b>Total</b>	<b>610</b>	<b>0.12</b>

Coste de preparación de muestras

**Limpieza, desenchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación,.**

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación material+ calibración equipos	Analista	3	0.87
Apertura+desenchado molusco	Auxiliar	9	2.16
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Auxiliar	10	2.40
Extracción toxinas+limpieza	Analista	11.5	3.34

Ajuste pH	Analista	3.3	0.96
Hidrólisis	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>13.04</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	92	0.02
Varillas vidrio	235	0.05
Probetas (250 mL)	340	0.07
Tubos centrífuga	440	0.08
Viales y gradillas *	13000	1.25
Filtros y jeringas para la clarificación	6760	1.30
Ampollas y reactivos para hidrólisis	3120	0.60
Mascarillas Carbón	580	0.11
Droguería	800	0.15
Etiquetas	60	0.01
Guantes nitrilo	400	0.08
Guantes latex	1100	0.21
Viales almacenamiento (14 ml)	92	0.02
<b>Total</b>	<b>27019</b>	<b>3.95</b>

\* Se asume que un 50% del material utilizado puede ser reciclado

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
HCl para extracción	520	0.10
Papel parafilm (75 m)	144	0.03
Tiras de pH	1035	0.20
Papel para escurrido y desconchado	416	0.08
Puntas pipetas (200,100,1-10)	14640	2.82
<b>Total</b>	<b>16755</b>	<b>3.22</b>

Coste por análisis (columnas, reactivos, filtros, viales, cartuchos ... Mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	Coste/muestra* €
Acondicionamiento HPLC preparación fases	Analista	20	5.80
ISOCRÁTICO 1 1:			
- Acondicionamiento con muestra	Analista	1.1	0.32
- Inyección de patrones para calibración (2 rectas de 4 puntos)	Analista	7.5	2.18
- Inyección de muestras	Analista	30	8.70
ISO2 1:			
- Acondicionamiento con muestra	Analista	1.1	0.32
- Inyección de patrones para calibración (2 rectas de 4 puntos)	Analista	7.5	2.18
- Inyección de muestras	Analista	30	8.70

Limpieza de HPLC y columna	Analista	6	1.74
<b>Total</b>			<b>29.93</b>

<sup>1</sup>Se asume que el 50% del tiempo de análisis puede dedicarse a otras tareas

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Reactivos para la reparación de fases móviles		
- Ácido Acético (glacial) 100% anhidro p.a.	41.6	0.01
- Amoníaco en solución 25% p.a.	41.6	0.01
- Acetonitrilo (HPLC Grade S )	998.4	0.19
- Ácido Fosfórico min. 85% p.a.	124.8	0.02
- Ácido Periódico PA-ACS.	832.0	0.16
- Ácido 1-Octanosulfónico sal sódica	832.0	0.16
- Hidróxido sódico	124.8	0.02
Lámpara de fluorímetro	5200.0	1.00
Columna (200 muestras)	11830.0	2.28
Precolumnas (200 inyecciones)	3536.0	0.68
Materiales de referencia	322.0	0.06
Metanol para lavado de columna	832.0	0.16
<b>Total</b>	<b>24715.2</b>	<b>4.75</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/númer	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	600L	0.02
Recipientes		0.05
Transporte		0.02
<b>Total</b>		<b>0.09</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	Coste/muestra' €
Interpretación y reanálisis de cromatogramas	Licenciado	3	1.23
Actividades de acreditación	Licenciado	2	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.87
Revisión e informes	Licenciado	2	0.82
<b>Total</b>			<b>3.74</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06

Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

## Coste total

Personal	46.71
Material y otros	24.68
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>71.39</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>371225.00</b>
----------------------------	------------------

### 1.4.1.3.3. Hora de obtención de los últimos de resultados, con HPLC postcolumna, en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

En un programa de control, partiendo de la recepción de muestras a las 12 de la mañana, tras la preparación y extracción de las muestras se pueden comenzar las inyecciones. La tanda cromatográfica podría comenzar a las 5 de la tarde y serían necesarios, para un total de 25 muestras,  $25 \times 93$  minutos = 39 horas, que entre dos HPLC suponen 19.5 h. La tanda cromatográfica terminaría a las 12:30 h. Las actividades de revisión, acreditación y preparación de informes requieren 9 minutos por muestra lo que suponen 3 horas de trabajo adicional hasta la preparación de los informes oficiales. La hora de emisión de los informes de resultados sería, por tanto las 15:30h del día siguiente a la recepción de muestras.

Al igual que en el caso de la técnica de HPLC con oxidación precolumna, sería posible acortar los tiempos de procesado en caso de no estar presentes en el perfil tóxico toxinas que no requieran hidrólisis para ser cuantificadas. Sin embargo, al no poder tomar las decisiones sobre qué muestras inyectar y que muestras no en función de los primeros análisis y de forma interactiva, el adelantamiento de la hora final de emisión de informes no podría ser sustancial.

En el caso de un número reducido de muestras, el final de la tarde o el inicio de la mañana siguiente a la recepción de muestras son estimaciones realistas

### 1.4.1.3.4. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del HPLC postcolumna

Existen varios inconvenientes de esta técnica en su estado de desarrollo actual. El primero de ellos es la necesidad de realizar varias inyecciones para analizar todas las toxinas implicadas en muestras complejas. En episodios derivados de especies con un perfil de toxinas sencillo y limitado a las GTX, como es el caso de *Alexandrium minutum* una inyección es suficiente, pero en el caso de especies con perfiles más complejos, como *Gymnodinium catenatum* se necesitan dos inyecciones para cuantificar únicamente las toxinas de alta toxicidad y 3 o 4 si se pretende cuantificar también las de baja. Los métodos que utilizan un gradiente discontinuo y que han sido publicados durante el desarrollo de este proyecto (Rourke et al 2008) o que están en desarrollo en otro proyecto JACUMAR (*Comparación de metodologías para la determinación de toxinas paralizantes en bivalvos relacionadas con el Paralytic Shellfish Poisoning (PSP). Aplicación a la acuicultura en España*), en la actualidad no aportan una ventaja sustancial, ya que los tiempos de equilibrado del sistema cromatográfico necesarios hacen que el tiempo requerido para la determinación sea prácticamente el mismo que con el método de varios isocráticos que hemos usado.

El segundo problema es la aparición de interferentes cuya aparición es muy difícil de predecir. No son habituales en el mejillón de Galicia, aunque sí se dan en algún caso, pero aparecen en ocasiones cuando se analizan otras especies. Esto obliga a efectuar cambios en las condiciones cromatográficas y/o a introducir



pasos de limpieza que hasta la fecha no han sido bien estudiados, salvo en algunos casos muy concretos. Estos aspectos también se están estudiando en el proyecto JACUMAR comentado anteriormente.

El tercer problema es que las columnas cromatográficas se obturan tras un número reducido de muestras. Esto es así, tanto en una tanda cromatográfica, en la que es difícil realizar más de 20 inyecciones, como a más largo plazo, en el que la vida útil de una columna raramente supera las 300 inyecciones. Este problema supone por un lado un incremento considerable del coste de los análisis y, por otro, la imposibilidad de realizar tandas de análisis largas por el riesgo de inutilidad de una parte de los análisis de una tanda cromatográfica.

Resulta clave, por tanto, para la utilización rutinaria de esta técnica, el desarrollo de métodos de preparación de las muestras que eviten o minimicen estos problemas. Se está desarrollando trabajo en este sentido en el proyecto JACUMAR comentado.

#### 1.4.1.4. Análisis del coste de los análisis por tests Jellett

##### 1.4.1.4.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)

###### Coste de instalaciones

Concepto	Años de vida	Coste adquisición (€)	% utilización	Coste/muestra €
Balanza	10	3200	20	0.27
Centrífuga	10	40000	20	3.33
pH-metro	10	610	20	0.05
Batidora/Trituradora	1	180	20	0.15
Nevera	10	350	20	0.03
Congelador	10	600	20	0.05
Pipeta automática 100-500 µl	1	585	20	0.49
Material disección	1	230	20	0.19
Placa Calefactora	10	500	20	0.04
Equipo purificación de agua	10	17000	20	1.42
<b>Total</b>		<b>63255</b>		<b>6.02</b>

###### Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste anual €	Coste/muestra
Equipo de purificación de agua	10	800	3.33
Centrífuga	8	640	2.67
<b>Total</b>		<b>800</b>	<b>6.00</b>

###### Coste de fungibles asociados al mantenimiento

Equipo	Coste anual €	Coste/muestra
Calibrantes pH-imetro	38	0.16
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>0.16</b>

## Coste de preparación de muestras

### Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliar	26000	0.24
Analista	31621	0.29
Licenciado	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	9	2.16
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Auxiliar	10	2.40
Clarificación y etiquetado	Analista	11	3.19
Ajuste pH	Analista	3.3	0.96
Hidrólisis	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>12.03</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	32	0.13
Filtros y jeringas para la clarificación	360	1.50
Viales y gradillas	864	3.60
Ampollas y reactivos para hidrólisis	144	0.60
Calibrantes pH-ímetro	52	0.22
Tubos centrifuga	177	0.74
Etiquetas	60	0.25
<b>Total</b>	<b>1689</b>	<b>7.04</b>

## Coste por análisis

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Preparación test	Analista	3	0.87
Lectura tests y anotación resultado	Analista	5	1.45
<b>Total</b>			<b>2.32</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Kits Jellet PSP rapid test	7840	32.67
<b>Total</b>	<b>7839.7</b>	<b>32.67</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/númer	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	42L	0.50
Recipientes		0.50
Transporte		0.50
<b>Total</b>		<b>1.50</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	% dedicación	Coste/muestra* €
Informes y actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
<b>Total</b>				<b>1.04</b>

### Acreditación Copiado de bioensayo PSP

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92
Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

## Coste total

<b>Personal</b>	<b>15.38</b>
<b>Material y otros</b>	<b>58.38</b>
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>73.76</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>17703.18</b>
----------------------------	-----------------

#### 1.4.1.4.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

##### Coste de instalaciones

Concepto	Años de vida	Coste adquisición ( € )	Coste/ muestra €
Balanza	10	3200	0.06
Centrífuga	10	40000	0.77
pH-metro	10	610	0.01
Batidora/Trituradora	1	180	0.03
Nevera	10	350	0.01
Congelador	10	600	0.01
Pipeta automática 100-500 µl	1	585	0.11
Material disección	1	230	0.04
Placa Calefactora	10	500	0.01
Equipo purificación de agua	10	17000	0.33
<b>Total</b>			<b>1.39</b>

##### Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste anual €	Coste/muestra
Equipo de purificación de agua	10	1700	0.03
Centrífuga	8	3200	0.06
<b>Total</b>		<b>4900</b>	<b>0.09</b>

##### Coste de fungibles asociados al mantenimiento

Concepto	Coste anual €	Coste/muestra
Calibrantes pHmetro	70	0.01
Electrodo pH micro	540	0.10
<b>Total</b>	<b>610</b>	<b>0.12</b>

##### Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza-custodia muestras	Auxiliar	9	2.16
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	9	2.16
Triturado+pesada+ dosificac ácido	Auxiliar	10	2.40
Clarificación y etiquetado	Analista	11	3.19
Ajuste pH	Analista	3.3	0.96
Hidrólisis	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>12.03</b>

Concepto	Coste anual €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	92	0.02
Tubos de ensayo poliestireno o Polipropileno de 50 mL 200x	200	0.04
Probeta de vidrio clase A 10 mL	93	0.02
Probeta de vidrio clase A 50 mL	108	0.02
Probeta de vidrio clase A 500 mL	376	0.07
Recipiente para baño de agua	100	0.02
Embudo plástico 10x	159	0.03
Viales de vidrio 15 ml 100x	550	0.11
Gradillas para tubos de 50 mL	101	0.02
Puntas de micropipeta	60	0.01
Gradillas microtubos	35	0.01
Filtro de papel	560	0.11
<b>Total</b>	<b>2433</b>	<b>0.47</b>

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Tiras de pH	1035	0.20
Papel para escurrido y desconchado	416	0.08
Guantes nitrilo	400	0.08
Guantes latex	1100	0.21
<b>Total</b>	<b>2951</b>	<b>0.57</b>

### Coste por análisis

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Preparación test	Analista	3	0.87
Lectura tests y anotación resultado	Analista	2	0.58
<b>Total</b>			<b>1.45</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Kit Jellet PSP rapid test	154418	29.70
<b>Total</b>	<b>154418</b>	<b>29.70</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/númer	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	420L	0.50
Recipientes		0.50
Transporte		0.10
<b>Total</b>		<b>1.10</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra' €
Informes y actividades de acreditación	Licenciado	2	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.87
<b>Total</b>			<b>1.69</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06
Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

## Coste total

<b>Personal</b>	<b>15.17</b>
<b>Material y otros</b>	<b>33.68</b>
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>48.85</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>254011.63</b>
----------------------------	------------------

### 1.4.1.4.3. Hora de obtención de los últimos de resultados con tests Jellett, en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

La duración de las determinaciones por medio de los kits Jellett está fundamentalmente condicionada por la extracción, ya que el tiempo requerido para la determinación propiamente dicha es corto y además pueden hacerse varias determinaciones en paralelo. Adicionalmente, como las posibilidades de respuesta son positivo o negativo, el tiempo para el examen de los resultados y la preparación de informes se reduce al máximo.

Si asumimos la llegada de las muestras a las 12 de la mañana, antes del final de la jornada de tarde los resultados definitivos estarían disponibles.

En el caso de 20 muestras/mes (5 muestras/1 día de la semana), los resultados estarían disponibles a última hora de la jornada de mañana o primera hora de la tarde.

#### 1.4.1.4.4. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del test Jellett

Desde el punto de vista de la dinámica de las determinaciones, el único problema de los tests Jellett es la posibilidad de obtención de resultados dudosos. Como puede apreciarse de la siguiente figura (tomada de Laylock et al 2010, pero que refleja perfectamente las situaciones reales), el desarrollo de las dos líneas coloreadas es progresivo y existe un margen de decisión para la persona que lea las barras de test en el que puede decidir si el resultado es positivo o negativo.



Actual LOD from dilution series = 25  $\mu\text{g}$  STX.2HCl equiv / 100g

**Figura 2. 8** Apariencia de las barras de test Jellett como respuesta a una serie de diluciones de saxitoxina (de Laycock et al 2010)

Desde el punto de vista operativo, para un programa de control, presenta algunos problemas adicionales, unos comunes a todos los inmunoensayos y otros derivados de los resultados si/no que se obtienen de los tests.

La sensibilidad del test es diferente para las distintas toxinas PSP que pueden estar presentes en una muestra, porque lo que se mide realmente es la respuesta conjunta a todas las toxinas pero ponderando la concentración de cada una de ellas con su reactividad cruzada con la toxina de referencia que, en este caso, es la saxitoxina. El problema surge de que la reactividad cruzada no coincide con la potencia tóxica (se da una tabla de reactividades cruzadas y potencias tóxicas en la sección de “Evaluación del impacto de los niveles máximos permisibles” con lo cual las concentraciones de algunas toxinas muy tóxicas tienen poco efecto en el test y viceversa, y por tanto en ocasiones la toxicidad puede estar sustancialmente sobreestimada y en otras subestimada. Esto genera una notable incertidumbre en caso de que no se conozca el perfil tóxico de las muestras, para lo cual se necesita utilizar otra técnica.

Otro problema importante desde el punto de vista operativo es que la técnica no da un valor de toxicidad o concentración de toxina que pueda servir para planificar el espaciamiento entre muestreos dentro de un programa de control, salvo en el caso de que se hagan diluciones seriadas, en cuyo caso el coste se incrementa de una forma sustancial.

## 1.4.2. DSP

### 1.4.2.1. Análisis del coste de los ensayos de ratón

#### 1.4.2.1.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)

Coste de instalaciones (jaulas, animalario,...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	% utilización	Coste/muestra €
Balanza	10	3000	20	0.25
Syncore	10	24000	80	8.00
Rotavapor+baño	10	3800	80	1.27
Medidor vacío p/rotav	10	600	80	0.20
Refrigerador de recirculación	10	3620	80	1.21
Centrífuga	10	40000	20	3.33
Batidora/trituradora	1	180	20	0.15
Placa Calefactora	5	500	20	0.08
Congelador	8	600	20	0.06
Nevera	8	350	20	0.04
Material Disección	1	230	20	0.19
Pipetas 5 mL	1	209	20	0.17
Dosificador 50 ml	1	640	20	0.53
Dosificador 10 ml	1	220	20	0.18
Animalario (módulo)	8	18000	50	4.69
<b>Total</b>		<b>95949</b>		<b>20.36</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
Animalario	5	720	3.00
Centrífuga	8	800	3.33
Rotavapor y accesorios	8	352	1.47
<b>Total</b>		<b>1872</b>	<b>7.80</b>

Coste de fungibles asociados a los animales (ratones, comida...)

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Lecho	1400	5.83
Pienso	1300	5.42
Desinfectantes	90	0.38
Contenedores de residuos	150	0.63
Ratones (pedidos/año)	3500	14.58
Biberones, jaulas	160	0.67
<b>Total</b>	<b>6600</b>	<b>27.50</b>

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24



Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Actividades bienestar animal	Auxiliar	2	0.48
<b>Total</b>			<b>0.48</b>

### Coste de preparación de muestras

#### Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material y calibración de equipos	Analista	3	0.87
Apertura+desconchado molusco	Auxiliar	18	4.32
Secado+ Triturado+pesada	Analista	5	1.45
Extracción acetona	Analista	18	5.22
Reparto de disolventes (eter)	Analista	15	4.35
Filtrado	Analista	5	1.45
Evaporación individual	Analista	20	5.8
Resuspensión	Analista	5	1.45
<b>Total</b>			<b>27.07</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	46	0.19
Varillas vidrio	118	0.49
Probetas (250 mL)	50	0.21
Tubos de centrifuga (16x100 mm)	20	0.08
Gradillas	20	0.08
pipetas pasteur	50	0.21
Embudo decantación	150	0.63
Tubos Syncore	300	1.25
Erlenmeyer	250	1.04
tetinas p/ pipeta+espátulas	20	0.08
botes p/controles	20	0.08
Mascarillas Carbón	125	0.52
Droguería	100	0.42
Filtro de papel	100	0.42
Otros	100	0.42
Detergente	180	0.75
<b>Total</b>	<b>1649</b>	<b>6.87</b>

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acetona PA-ACS-ISO	320	1.33
Tween 60	48	0.20
Eter etílico	180	0.75
Placas petri	50	0.21
Resma papel	40	0.17
Guantes nitrilo	120	0.50
Guantes latex	230	0.96
<b>Total</b>	<b>988</b>	<b>4.12</b>

Coste por análisis (jeringuillas, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Inoculación ratones (1 muestra)	Licenciado	1.5	0.62
<b>Total</b>			<b>0.62</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Jeringas insulina	50	0.21
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>0.21</b>

Coste post-análisis

#### Eliminación de residuos

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Eliminación biosanitarios	355	1.48
Contenedores de residuos	72	0.30
<b>Total</b>	<b>427</b>	<b>1.78</b>

#### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	% dedicación	Coste/muestra* €
Actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
Revisión e informes	Licenciado	2	100	0.82
<b>Total</b>				<b>1.86</b>

#### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92

Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

#### Coste total

Personal	30.02
Material y otros	75.49
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>105.51</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>25323.35</b>
----------------------------	-----------------

#### 1.4.2.1.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

##### Coste de instalaciones (jaulas, animalario,...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
Balanza	10	3000	0.06
Centrifuga	10	40000	0.77
pH-metro	10	600	0.01
Syncore	10	24000	0.46
Rotavapor+baño	10	7600	0.15
Medidor vacio p/rotav	10	1200	0.02
Refrigerador de recirculación	10	3620	0.07
Refrigerador minichiller	10	1300	0.03
Animalario	8	35000	0.84
Batidora/trituradora	1	180	0.03
Placa Calefactora	5	500	0.02
Congelador	8	600	0.01
Nevera	8	350	0.01
Material Disección	1	230	0.04
Impresora de etiquetas	5	960	0.04
Pipeta dosificadora	5	320	0.01
Pipeta 1 ml	5	318	0.01
Pipeta 100 ul	5	200	0.01
Lavavajillas	10	3500	0.07
Lavajaulas	10	30000	0.58
Equipo Purificación de agua	10	17000	0.33
<b>Total</b>		<b>170478</b>	<b>3.57</b>

##### Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste €	Coste/muestra €
Animalario	5	1750	0.34
Centrífuga	8	3200	0.62
Purificador agua	10	1700	0.33
Rotavapor y accesorios (8%)	8	1098	0.21
<b>Total</b>		<b>6650</b>	<b>1.28</b>

Coste de fungibles asociados a los animales (ratones, comida...)

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Lecho	3500	0.67
Pienso	3250	0.63
Desinfectantes	300	0.06
Contenedores de residuos	500	0.10
Progenitores cría	1700	0.33
Ratones (pedidos/año)	4500	0.87
Biberones, jaulas	800	0.15
<b>Total</b>	<b>14550</b>	<b>2.80</b>

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Actividades bienestar animal	Auxiliar	10	2.4
Actividades bienestar animal	Licenciado	3	1.23
<b>Total</b>			<b>3.63</b>

Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material y calibración de equipos	Analista	3	0.87
Apertura+desconchado+disección	Auxiliar	18	4.32
Secado+ Triturado+pesada	Analista	5	1.45
Reparto de disolventes (eter)	Analista	15	4.35
Extracción acetona	Analista	18	5.22
Filtrado	Analista	5	1.45
Evaporación disolventes	Analista	20	5.8
Resuspensión	Analista	5	1.45

<b>Total</b>			<b>27.07</b>
--------------	--	--	--------------

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Vasos precipitados	92	0.02
Varillas vidrio	235	0.05
Probetas (25 y 50 mL)	90	0.02
Tubos de centrifuga (16×100 mm)	90	0.02
Gradillas	90	0.02
Aspiradores de pipetas	100	0.02
Embudo decantación	674	0.13
Tubos Syncore	1200	0.23
Erlenmeyer	1080	0.21
tetinas p/ pipeta+espátulas	100	0.02
botes p/controles	60	0.01
Mascarillas Carbón	580	0.11
Droguería	800	0.15
filtro de papel	560	0.11
Otros	300	0.06
Detergente	350	0.07
<b>Total</b>	<b>6401</b>	<b>1.23</b>

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Acetona PA-ACS-ISO	6320	1.22
Tween 60	100	0.02
Eter etílico	3588	0.69
Placas petri	550	0.11
Resma papel	198	0.04
Guantes nitrilo	550	0.11
Guantes latex	1106	0.21
<b>Total</b>	<b>12412</b>	<b>2.39</b>

### Coste por análisis (jeringuillas, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Inoculación ratones (1 muestra)	Licenciado	1.5	0.615
<b>Total</b>			<b>0.62</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Jeringas insulina	1000	0.19
<b>Total</b>	<b>1000</b>	<b>0.19</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Recogida biosanitarios	572	0.11
Residuos volátiles, aguas y no clorados	2080	0.40
Contenedores de residuos	120	0.02
<b>Total</b>	<b>2772</b>	<b>0.53</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	Coste/muestra* €
Actividades de acreditación	Licenciado	2	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.87
Revisión e informes	Licenciado	2	0.82
<b>Total</b>			<b>2.51</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06
Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

#### 1.4.2.1.2.7. Coste total

<b>Personal</b>	<b>33.83</b>
<b>Material y otros</b>	<b>12.24</b>
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>46.06</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>239520.35</b>
----------------------------	------------------

#### 1.4.2.1.3. Hora de obtención de los últimos de resultados, con bioensayo de ratón en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

En un escenario de un programa de control, con 25 determinaciones diarias (100 muestras/semana), asumiendo que las muestras llegan al laboratorio a las 12 de la mañana terminarían de extraerse a las 18h. La inyección de 75 ratones supone 50 minutos, con lo cual esta operación se terminaría a la 18:50. Una vez inoculados el período de observación es de 24 horas, por lo cual hasta las 18:50h del día siguiente no puede disponerse de todos los resultados, si bien, los inyectados con muestras más tóxicas morirán antes y podrán tomarse las decisiones adecuadas en un período de 12h. La preparación del informe de ensayo requiere 60

minutos adicionales, por lo que los resultados oficiales definitivos de cada día de ensayos se obtendrían a las 19:50h del día siguiente a la recepción de las muestras, si bien, como ya comentamos pueden haberse adelantado informes parciales y decisiones si se producen muertes en períodos más cortos.

En un escenario de determinaciones esporádicas, con 5 determinaciones en un día de la semana (20 muestras/mes), y asumiendo que las muestras llegan al laboratorio a la misma hora (12 h), la extracción de las muestras supondría aproximadamente 120 minutos y la inyección otros 30. Con la observación de 24 horas el informe final estaría disponible aproximadamente a las 14:45 horas del día siguiente a la recepción de las muestras.

#### 1.4.2.1.4. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del bioensayo de ratón

El uso del bioensayo de ratón presenta, para las toxinas lipofílicas, los mismos inconvenientes que para las paralizantes y algunos adicionales. Entre estos están, principalmente: a) que su límite de detección está muy próximo al nivel máximo permisible en la actualidad; b) que la duración del ensayo es larga, requiriendo 24 horas de observación; y c) que no distingue, si no se hace una observación frecuente, entre grupos de toxinas con distinta actividad y con distintos niveles permisibles, por lo que pueden producirse cierres innecesarios o requerirse extracciones de toxinas más selectivas. Por otra parte mantiene también las ventajas de poder hacer ensayos en paralelo, de detectar distintos grupos de toxinas e incluso de detectar nuevos grupos de toxinas o análogos desconocidos pertenecientes a grupos habitualmente monitorizados.

#### 1.4.2.2. Análisis del coste de los ensayos de fosfatasas

##### 1.4.2.2.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)

Coste de instalaciones (Lector de placas, pipetas, hidrólisis...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	% utilización	Coste/muestra €
Fluorímetro de placas	10	18000	25	1.88
pH- Meter	10	600	25	0.06
Centrífuga	10	40000	25	4.17
Batidora	1	180	25	0.19
Ultra-Turrax o equiv.	10	2049	25	0.21
Balanza 0.1 mg	10	3000	25	0.31
Placa Calefactora	5	500	25	0.10
Congelador	8	600	10	0.03
Nevera	8	350	10	0.02
Pipeta dosificadora	5	320	25	0.07
Pipeta 1 ml	5	318	25	0.07
Pipeta 100 ul	5	200	25	0.04
Material Disección	3	10	25	0.00
<b>Total</b>		<b>66127</b>		<b>7.15</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste/año €	Coste/muestra €
Fluorímetro placas	10	450	1.88
Centrífuga	8	800	3.33

<b>Total</b>		<b>1250</b>	<b>5.21</b>
--------------	--	-------------	-------------

## Coste de preparación de muestras

### Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de las muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material	Analista	4	1.16
Apertura, desconchado	Auxiliar	14	3.36
Homogeneizado inicial y pesada	Auxiliar	8	1.92
Homogeneizado+extracción, con Ultraturrax	Auxiliar	4	0.96
Centrifugación extracto	Auxiliar	4	0.96
Hidrólisis	Auxiliar	4	0.96
Adición buffer	Analista	1	0.29
<b>Total</b>			<b>11.77</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	30	0.13
Filtros y jeringas para la clarificación	300	1.25
Viales y gradillas *	600	1.25
Tubos centrífuga*	30	0.06
<b>Total</b>	<b>960</b>	<b>2.69</b>

\* Se asume que un 50% del material utilizado puede ser reutilizado

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Metanol para extracción	173	0.72
<b>Total</b>	<b>173</b>	<b>0.72</b>

### Coste por análisis (Kit, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Comprobación/ acondicionamiento del equipo	Analista	0.5	0.15
Preparación secuencias de lectura	Analista	1.2	0.35
Adición de reactivos y patrones	Analista	3	0.87



Lectura de las placas del test	Analista	14	4.06
<b>Total</b>			<b>5.42</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Tests Toxiline	8400	35.00
<b>Total</b>	<b>8400</b>	<b>35.00</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/número	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	30L	0.01
Recipientes		0.01
Transporte		0.01
<b>Total</b>		<b>0.03</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	% dedicación	Coste/muestra €
Actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
Revisión e informes	Licenciado	2	100	0.82
<b>Total</b>				<b>1.86</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92
Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

## Coste total

<b>Personal</b>	<b>19.05</b>
<b>Material y otros</b>	<b>55.80</b>
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>74.85</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>17962.95</b>
----------------------------	-----------------

#### 1.4.2.2.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

Coste de instalaciones (Lector de placas, pipetas, hidrólisis...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
Fluorímetro de placas	10	18000	0.35
pH- Meter	10	600	0.01
Equipo Purificación de agua	10	30000	0.58
Centrifuga	10	40000	0.77
Batidora	1	180	0.03
Ultra-Turrax o equiv.	10	2049	0.04
Balanza 0.1 mg	10	3000	0.06
Placa Calefactora	5	500	0.02
Congelador	8	600	0.01
Nevera	8	350	0.01
Pipeta dosificadora	5	320	0.01
Pipeta 1 ml	5	318	0.01
Pipeta 100 ul	5	200	0.01
Material Disección	1	230	0.04
Impresora de etiquetas	5	960	0.04
<b>Total</b>		<b>97307</b>	<b>1.99</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste/año €	Coste/muestra €
Equipo Purificación de Agua	10	3000	0.06
Centrifuga	8	3200	0.08
Fluorímetro de placas	10	1800	0.03
<b>Total</b>		<b>6200</b>	<b>0.13</b>

Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de las muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material	Analista	4	1.16
Apertura, desconchado	Auxiliar	14	3.36
Homogeneizado inicial y pesada	Auxiliar	8	1.92
Homogeneizado+extracción, con Ultraturax	Auxiliar	4	0.96
Centrifugación extracto	Auxiliar	4	0.96
Hidrólisis	Auxiliar	4	0.96
Clarificación y etiquetado hidrolizados	Analista	4	1.16
<b>Total</b>			<b>9.32</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	560	0.11
Filtros y jeringas para la clarificación	5000	0.96
Viales y gradillas *	7200	1.38
Tubos centrífuga*	440	0.08
<b>Total</b>	<b>13200</b>	<b>2.54</b>

\* Se asume que un 50% del material utilizado puede ser reciclado

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Reactivos para hidrólisis (NaOH, HCl)	60	0.01
Metanol para extracción	1872	0.36
<b>Total</b>	<b>24368</b>	<b>0.37</b>

### Coste por análisis (Kits, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Comprobación/ acondicionamiento del equipo	Analista	0.5	0.12
Preparación secuencias de lectura	Analista	1.2	0.29
Adición de reactivos y patrones	Analista	3	0.72
Lectura de las placas del test	Analista	14	3.36
<b>Total</b>			<b>4.49</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Viales	5000	0.96
Etiquetas	658	0.13
Tests Toxiline	145600	28.00
<b>Total</b>	<b>151258</b>	<b>29.09</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/número	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	300L	0.01
Recipientes		0.03
Transporte		0.02
<b>Total</b>		<b>0.06</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	Coste/muestra* €
Actividades de acreditación	Licenciado	2	0.58
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.72
Revisión e informes	Licenciado	2	0.58
<b>Total</b>			<b>1.88</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06
Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

### Coste total

<b>Personal</b>	<b>15.69</b>
<b>Material y otros</b>	<b>34.43</b>
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>50.12</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>260602.85</b>
----------------------------	------------------

#### 1.4.2.2.3. Hora de obtención de los últimos de resultados, con ensayo de fosfatasas, en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

En un escenario de un programa de control, con 25 determinaciones diarias (100 muestras semana), asumiendo que las muestras llegan al laboratorio a las 12 de la mañana terminarían de extraerse a las 2:30h de la tarde. A partir de ese momento y dado que es posible llevar a cabo la incubación de los extractos en paralelo, es posible llevar a cabo las 25 determinaciones en aproximadamente 2 horas. Dado que la

interpretación de los resultados de los ensayos tampoco resulta complicada, la preparación de los informes oficiales ocuparía únicamente 50 minutos adicionales. Con esta técnica, podría, por tanto, disponerse de los resultados definitivos aproximadamente a las 17:30h, del mismo día en el que se reciben las muestras.

En un escenario de menor intensidad de muestreo (5 muestras por semana en 1 día), el tiempo empleado no disminuye sustancialmente ya que la reducción se produce casi exclusivamente en el tiempo de extracción y preprocesado de la muestras que se reduciría a unos 40 min. El tiempo de la determinación de la actividad de inhibición de fosfatasas en los extractos no se reduciría, sin embargo, sustancialmente requiriendo aproximadamente 1 h 30 min. El tiempo total, por tanto, sería de 2 h:10 min, que al añadir el tiempo necesario para hacer los informes de ensayo (15 min), supondría que podría disponerse del resultado final a las 14:30h aproximadamente, siempre suponiendo que la recepción de las muestras sea a las 12 de la mañana.

#### 1.4.2.2.3. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del ensayo de fosfatasas

El principal inconveniente del uso de la técnica de fosfatasas es que no cubre la actividad de todas las toxinas lipofílicas que es preciso monitorizar según la normativa europea actual. La técnica presenta algunas ventajas significativas sobre la técnicas cromatográficas de cara a su uso en sistemas de control, pero fundamentalmente que es paralelizable de forma que se pueden realizar varios ensayos simultáneamente, que no requiere personal altamente especializado y que no requiere equipamiento complejo y caro.

El primer inconveniente comentado hace que únicamente pueda usarse como complemento y que, de todas formas, se requieran otras técnicas para determinar las toxinas lipofílicas que no tienen actividad inhibitoria sobre las proteínas fosfatasas.

En la actualidad el kit probado está siendo sustituido por otro que no requiere lector de fluorescencia sino de absorbancia (de menor precio) pero que, según, nuestra experiencia hasta el momento presenta las mismas virtudes y desventajas que la técnica probada.

#### 1.4.2.3. Análisis del coste de HPLC-MS

##### 1.4.2.3.1. Escenario 1. Determinaciones esporádicas (20/mes)

Coste de instalaciones (HPLC-MS+ instalaciones accesorias, pipetas, hidrólisis...)

Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	% utilización	Coste/muestra €
HPLC-MS	10	240000	25	25.00
UPS 8000VA	10	6000	25	0.63
Generador de Nitrógeno	10	14000	25	1.46
pH- Meter	10	600	25	0.06
Centrifuga	10	40000	25	4.17
Batidora	1	60	25	0.06
Ultra-Turrax o equiv.	10	2049	25	0.21
Baño Ultrasonidos	10	484	50	0.10
Balanza 0.1 mg	10	3000	10	0.13
Placa Calefactora	5	500	25	0.10
Congelador	8	600	10	0.03
Nevera	8	350	10	0.02
Pipeta dosificadora	5	320	25	0.07
Pipeta 1 ml	5	318	25	0.07
Pipeta 100 ul	5	200	25	0.04

Material Disección	3	10	25	0.00
<b>Total</b>		<b>308491</b>		<b>32.15</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste/año €	Coste/muestra €
HPLC-MS	10	6000	25
Generador de Nitrógeno	8	280	0.05
Centrífuga	8	800	0.15
<b>Total</b>		<b>7080</b>	<b>25.21</b>

Coste de fungibles asociados (Capilares, agujas de spray, ...)

Concepto	Coste/año €	% utilización	Coste/muestra €
Peek tubing (5ft)	45	25	0.05
Nuts, ferrules	94	25	0.10
ESI needle	45	25	0.05
Filter inline	35	25	0.04
Frits	98	25	0.10
Filtros generador nitrógeno	300	25	0.31
<b>Total</b>	<b>617</b>		<b>0.64</b>

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Calibraciones/optimizaciones	Licenciado	5	2.05
Preparación disoluciones	Analista	5	1.45
<b>Total</b>			<b>3.50</b>

Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de las muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material	Analista	4	1.16
Apertura, desconchado	Auxiliar	14	3.36

Homogeneizado inicial y pesada	Auxiliar	8	1.92
Homogeneizado+extracción, con Ultraturax	Auxiliar	4	0.96
Centrifugación primer extracto	Auxiliar	4	0.96
Segunda extracción, con Sonicador	Auxiliar	4	0.96
Centrifugación segundo extracto	Auxiliar	4	0.96
Combinación extractos y enrasado	Auxiliar	2	0.48
Purificación de muestra no hidrolizadas	Analista	2	0.58
Etiquetado muestras no hidrolizadas	Analista	2	0.58
Hidrólisis	Auxiliar	4	0.96
Clarificación hidrolizados	Analista	2	0.58
Purificación de muestra hidrolizadas	Analista	2	0.58
<b>Total</b>			<b>16.20</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	30	0.13
Filtros y jeringas para la clarificación	500	2.08
Viales y gradillas *	900	1.88
Tubos centrifuga*	30	0.06
<b>Total</b>	<b>1460</b>	<b>4.15</b>

\* Se asume que un 50% del material utilizado puede ser reciclado

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Metanol para extracción	172.8	0.03
<b>Total</b>	<b>172.8</b>	<b>0.03</b>

### Coste por análisis (Viales, filtros, SPE, patrones, ... Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Comprobación/ acondicionamiento del equipo	Analista	15	4.35
Preparación secuencias de muestras	Analista	1.2	0.35
Control del equipo (70% tiempo de uso)	Analista	14	4.06
<b>Total</b>			<b>8.76</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Viales(3)	547.20	2.28
Etiquetas	72.89	0.30
Cartuchos SPE(2)	1831.68	7.63
Acetonitrilo+formico/formiato	211.13	0.88
Patrones	465.23	1.94
Columnas	152.31	0.63
Precolumnas	25.09	0.10
<b>Total</b>	<b>3305.53</b>	<b>13.77</b>

## Coste post-análisis

### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/número	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	60L	0.04
Recipientes		0.11
Transporte		0.04
<b>Total</b>		<b>0.19</b>

### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	% dedicación	Coste/muestra* €
Interpretación y reanálisis de cromatogramas	Licenciado	6	100	2.46
Limpieza final del equipo	Analista	4	100	1.16
Actividades de acreditación	Licenciado	2	100	0.82
Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	25	0.22
Revisión e informes	Licenciado	2	100	0.82
<b>Total</b>				<b>5.48</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	1.25
Intercomparativos	700	2.92
Controles internos	200	0.83
<b>Total</b>	<b>1200</b>	<b>5.00</b>

## Coste total

Personal	33.94
Material y otros	81.11
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>115.04</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>27609.78</b>
----------------------------	-----------------

### 1.4.2.3.2. Escenario 2. Determinaciones rutinarias (100/semana)

Coste de instalaciones (HPLC-MS+ instalaciones accesorias, pipetas, hidrólisis...)



Concepto	Duración estimada (Años)	Coste €	Coste/muestra €
2 HPLC-MS	10	480000	9.23
2 UPS 8000VA	10	12000	0.23
Generador de Nitrógeno	10	14000	0.27
pH- Meter	10	600	0.01
Equipo Purificación de agua	10	30000	0.58
2 Centrifugas alta velocidad	10	80000	1.54
Equipo SPE	10	40000	0.77
Batidora	1	180	0.03
Ultra-Turrax o equiv.	10	2049	0.04
Baño Ultrasonidos	10	484	0.01
Desintegrador Ultrasonidos	10	14000	0.27
Balanza 0.1 mg	10	3000	0.06
Placa Calefactora	5	500	0.02
Lavavajillas	8	8500	0.20
Congelador	8	600	0.01
Nevera	8	350	0.01
Pipeta dosificadora	5	320	0.01
Pipeta 1 ml	5	318	0.01
Pipeta 100 ul	5	200	0.01
Material Disección	1	230	0.04
Impresora de etiquetas	5	960	0.04
<b>Total</b>		<b>688291</b>	<b>13.40</b>

Coste mantenimiento instalaciones (incluyendo mano de obra)

Concepto	% de val./año	Coste/año €	Coste/muestra €
HPLC-MS	10	48000	9.23
Equipo Purificación de Agua	10	3000	0.58
Generador de Nitrógeno	8	1120	0.22
Equipo SPE	10	4000	0.77
2 Centrifugas	8	6400	1.23
<b>Total</b>		<b>62520</b>	<b>12.02</b>

Coste de fungibles asociados (Capilares, agujas de spray, ...)

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Peek tubing (5ft)	90	0.02
Nuts, ferrules	188	0.04
ESI needle	90	0.02
Filter inline	70	0.01
Frits	196	0.04
Filtros generador nitrógeno	300	0.06
Materiales de referencia control de calidad diario	8840	1.70

<b>Total</b>	<b>934</b>	<b>1.88</b>
--------------	------------	-------------

Costes salariales estimados por categorías		
Categoría	Coste anual €	Coste/minuto €
Auxiliares	26000	0.24
Analistas	31621	0.29
Licenciados	45000	0.41

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Calibraciones/optimizaciones	Licenciado	6	2.46
Preparación disoluciones	Analista	6	1.74
<b>Total</b>			<b>4.20</b>

### Coste de preparación de muestras

Limpieza, desconchado, disección, homogeneización, extracción, clarificación, ...

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Limpieza y custodia de las muestras	Auxiliar	9	2.16
Rotulación de material	Analista	4	1.16
Apertura, desconchado	Auxiliar	14	3.36
Homogeneizado inicial y pesada	Auxiliar	8	1.92
Homogeneizado+extracción, con Ultraturrax	Auxiliar	4	0.96
Centrifugación primer extracto	Auxiliar	4	0.96
Segunda extracción, con Sonicador	Auxiliar	4	0.96
Centrifugación segundo extracto	Auxiliar	4	0.96
Combinación extractos y enrasado	Auxiliar	2	0.48
Purificación de muestra no hidrolizadas	Analista	2	0.58
Etiquetado muestras no hidrolizadas	Analista	2	0.58
Hidrólisis	Auxiliar	4	0.96
Clarificación hidrolizados	Analista	2	0.58
Purificación de muestra hidrolizadas	Analista	2	0.58
<b>Total preparación de muestra</b>			<b>16.2</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Papel para escurrido y desconchado	416	0.08
Filtros y jeringas para la clarificación	6760	1.30
Viales y gradillas *	13000	1.25
Tubos centrífuga*	440	0.04
Etiquetas	60	0.01
<b>Total</b>	<b>24368</b>	<b>2.68</b>

\* Se asume que un 50% del material utilizado puede ser reciclado

### Reactivos y purificación

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Reactivos para hidrólisis (NaOH, HCl)	60	0.01
Calibrantes pH-ímetro	52	0.01
Metanol para extracción	1872	0.36
<b>Total</b>	<b>24368</b>	<b>0.38</b>

Coste por análisis (Viales, filtros, SPE, patrones, ...Mano de obra)

Concepto	Categoría	Personas x minutos/muestra	Coste/muestra* €
Comprobación/ acondicionamiento del equipo	Analista	2.4	0.70
Preparación secuencias de muestras	Analista	2.4	0.70
Control del equipo (70% tiempo de uso, 1 pers.)	Analista	14	4.06
<b>Total</b>			<b>5.45</b>

Concepto	Coste/año €	Coste/muestra €
Viales	9880	1.90
Etiquetas	1316	0.25
Cartuchos SPE	33072	6.36
Acetonitrilo+formico/formiato amónico	3812	0.73
Patrones (incluye tuning de MS/MS)	19651	3.78
Columnas	2750	0.53
Precolumnas	453	0.09
<b>Total</b>	<b>70934</b>	<b>13.64</b>

Coste post-análisis

#### Eliminación de residuos

Concepto	Volumen/númer	Coste/muestra €
Eliminación de residuos	600L	0.02
Recipientes		0.05
Transporte		0.02
<b>Total</b>		<b>0.09</b>

#### Elaboración de resultados-control de calidad ( coste mano de obra)

Concepto	Categoría	Tiempo empleado/muestra (min)	Coste/muestra* €
Interpretación y reanálisis de cromatogramas	Licenciado	6	2.46
Limpieza final del equipo	Analista	4	1.16
Actividades de acreditación	Licenciado	2	0.82

Calibración y mant. Equipos (inc. Auxiliares)	Analista	3	0.87
Revisión e informes	Licenciado	2	0.82
<b>Total</b>			<b>6.13</b>

### Acreditación

Concepto	Coste/año €	Coste Muestra €
Auditoría	300	0.06
Intercomparativos	700	0.13
Controles internos	300	0.06
<b>Total</b>	<b>1300</b>	<b>0.25</b>

### Coste total

Personal	31.98
Material y otros	44.34
<b>Coste total por muestra (€)</b>	<b>76.32</b>

<b>Coste total por año</b>	<b>396876.35</b>
----------------------------	------------------

#### 1.4.2.3.3. Hora de obtención de los últimos de resultados, con HPLC-MS, en los dos escenarios asumiendo una jornada laboral estándar

En un programa de control con 100 muestras a la semana, asumiendo, como en el resto de los casos, que las muestras llegan a las 12 de la mañana y que se procesan 25 muestras día durante los 4 primeros días de la semana. El procesado completo de las muestras para su análisis por esta técnica, desarrollado tal como sugiere el borrador de SOP del laboratorio Comunitario de Referencia, requiere aproximadamente 7:30h, los extractos estarían listos para inyectar a las 19h:30min. El análisis de aproximadamente 13 muestras en cada HPLC-MS/MS supondría 52 inyecciones en cada equipo (extracto hidrolizado, sin hidrolizar y por duplicado cada uno de ellos), que requerirían 20 inyecciones de soluciones de referencia más 4 blancos y 4 soluciones de control de calidad, lo que hace un total de 78 inyecciones. Considerando 13 min la duración estándar de un cromatograma, el tiempo requerido para terminar los análisis sería de 17 horas. A partir de este tiempo (12:30 h del día siguiente) los equipos quedarían disponibles para su limpieza y preparación para la siguiente tanda de muestras. Al añadir el tiempo necesario para la revisión de los cromatogramas y de la preparación de informes, que es de 3 horas, resulta un total de 20 h. Por tanto, la información definitiva estaría disponible a las 15:30h del día siguiente a la recepción de las muestras.

En el caso de determinaciones esporádicas, con una frecuencia de 5 muestras/día una vez por semana, las 5 muestras del día requerirían 20 inyecciones de extracto 15 de materiales de referencia 3 blancos y 3 muestras de control de calidad, lo cual supone 41 inyecciones y por tanto 9 h de análisis. Asumiendo que el procesado requiere la mitad de tiempo que en el caso anterior, ya que habitualmente fuera de un programa de control se dispone de menos personal y menos entrenado para realizar las tareas requeridas para las extracción de las toxinas, sería necesario añadir a este tiempo 4 h, más 1h:15min revisión de cromatogramas y preparación de informes. Por tanto, comenzando a las 12 de la mañana los análisis terminarían a la 1h del día siguiente y la revisión de los cromatogramas habría de realizarse al inicio de la jornada siguiente, que suponiendo que sean la 8 de la mañana supondría que los informes podrían estar disponibles a las 9:15h del día siguiente a la recepción de las muestras.

#### 1.4.2.3.4. Problemas/inconvenientes detectados en el uso del HPLC-MS

La utilización del HPLC-MS o MS/MS para analizar las toxinas lipofílicas en un programa de control, presenta numerosos inconvenientes. Algunos de ellos son compartidos con otras técnicas que incluyen la cromatografía pero otros derivan de la complejidad técnica de los equipos de espectrometría de masas.

Los principales inconvenientes son los siguientes:

##### 1.- Coste de los análisis.

El coste del equipamiento es muy elevado en el caso del uso de la espectrometría de masas de triple cuadrupolo o de alta resolución. Para un flujo alto de trabajo, como el que se lleva a cabo en programas de control de áreas de producción importantes, como Galicia por ejemplo, es necesario disponer como mínimo de dos equipos de HPLC-MS/MS, que en las gamas más básicas rondan, o incluso superan, en la actualidad los 200.000€ cada uno, lo que supone una inversión mínima de 400.000 € a lo que hay que añadir los costes de sistemas de alimentación ininterrumpida y de generación, conducción y regulación de gases, por lo que la inversión, fácilmente supera los 500.000 €.

Además del coste del equipamiento, los costes de mantenimiento y de los materiales necesarios para los análisis, hacen que esta técnica sea notablemente más cara que el bioensayo de ratón. En un proyecto de investigación reciente se han estimado los costes de diversas técnicas de análisis y se han obtenido los siguientes para un programa de control en el que se analicen 5.200 muestras/año, que es el número de análisis aproximado que se llevan a cabo en Galicia. Los costes se dan en la tabla que figura a continuación.

##### 2. Complejidad del equipo que abre la posibilidad de que los problemas, cuando aparecen, no puedan ser resueltos en un plazo breve.

Los problemas que pueden tener estos equipos son muy diversos y pueden afectar de una forma sustancial al flujo de trabajo requerido en programas de control de zonas de producción importantes. Los problemas pueden ir desde interrupciones por causas menores (aumentos de presión de la columna, fallos en la inyección, fallos de software, etc.) hasta problemas importantes de la maquinaria o del software de los espectrómetros de masas.

La complejidad y el coste de estos equipos hacen que, aún con contratos de mantenimiento avanzado, existan reparaciones que no se puedan realizar en un tiempo breve. Son especialmente delicadas aquellas averías en las que los equipos no fallan de forma continua sino esporádicamente, lo cual las hace especialmente difíciles de diagnosticar y detectar y obligan a períodos de observación a veces prolongados. Adicionalmente, tras una avería importante, se hace necesario comprobar el correcto funcionamiento del equipo con una serie de pruebas que alargan nuevamente el período en el que el equipo no puede ser utilizado. Es, por tanto, relativamente probable que haya que mantener el equipo fuera de funcionamiento por períodos de una semana o incluso superiores. A estos períodos han de añadirse las tareas de mantenimiento periódico que, cuando requieren una limpieza en profundidad, difícilmente pueden llevarse a cabo sin un período de inactividad del equipo para el control de menos de dos días.

La necesidad de los espectrómetros de masas de contar, en una parte de su sistema, de alto vacío, supone que cualquier corte de suministro de energía eléctrica que no sea cubierto por suministro de emergencia y que supere la protección esperable por los sistemas de alimentación ininterrumpida (no más de 30 minutos), lleve a que se rompa el vacío y no se pueda restablecer el funcionamiento estable del equipo hasta que vuelva a generarse el alto vacío suficiente y además se estabilice, lo cual se considera habitualmente que requiere en torno a un día.

##### 3. Imposibilidad de paralelizar las determinaciones.

Uno de los problemas que presenta esta técnica para los programas de control intensivos, es la imposibilidad de llevar a cabo determinaciones en paralelo. Con técnicas como el bioensayo de ratón o el ensayo de inhibición de fosfatasa, es posible llevar a cabo la determinación de la toxicidad de varias muestras simultáneamente. En el caso de la técnica que nos ocupa, únicamente es posible analizar simultáneamente tantas muestras como equipos completos estén en funcionamiento en el laboratorio.

Como los equipos son caros y además requieren personal especializado para su manejo, es improbable que puedan realizarse más de dos muestras de forma simultánea, por lo que las muestras, básicamente se analizarán en serie, una detrás de otra. Esto supone, por un lado, un tiempo prolongado para poder disponer de los resultados de todos los análisis de un día y, por otro, una gran dificultad para adaptarse a situaciones

cambiantes que pueden requerir la realización en un día de un número considerablemente más alto de muestras que lo habitual. Tal puede ser el caso de momentos de alertas alimentarias relacionadas con población afectada por diarreas, decomisos de moluscos tóxicos provenientes de actividades irregulares, paralización de moluscos frescos en tránsito, etc.

4.- Imposibilidad o alto coste del control del correcto funcionamiento de los equipos en programas de control. Con una carga de muestras del orden de la actual en el programa de control de Galicia, la utilización de dos cromatógrafos con detector de espectrómetro de masas, para realizar el control, requeriría el funcionamiento de los equipos durante la noche, lo cual supone o bien que el correcto funcionamiento no se supervisará, o bien que será necesario contratar personal y habilitar un turno de trabajo de noche para ello.

Si se contrata personal su coste será elevado porque se necesitará más de una persona con experiencia en HPLC-MS/MS para cubrir el turno de noche. Si se opta por dejar los equipos sin atención, cualquier problema que interrumpa el funcionamiento de los equipos, que altere la calibración o la resolución del análisis o que cambie la sensibilidad del espectrómetro de masas, será detectado únicamente al día siguiente con lo cual los resultados de los análisis y las decisiones que depende de ellos habrán de retrasarse al día siguiente.

5. Problemas con efectos matriz tanto positivos como negativos.

Las determinaciones con este tipo de equipamiento, en general, detectan más o menos cantidad toxina de la que hay en realidad dependiendo de la muestra que se esté analizando (esto es lo que se conoce como efecto matriz). Muestras de diferentes especies de moluscos con la misma concentración de toxinas dan distintos resultados frecuentemente, pero además también pueden encontrarse diferencias entre muestras de la misma especie por razón de su estado fisiológico, incluso, en ocasiones hemos encontrado diferencias entre la respuesta del mismo lote de moluscos antes y después de ser congelados. En nuestra experiencia este tipo de problemas en la cuantificación de las toxinas tienen causas muy diversas y, por ello son muy variables, no fácilmente previsible y no pueden ser corregidos con métodos relativamente sencillos utilizados frecuentemente (uso de materiales de referencia que incluyan el bivalvo a analizar además de las toxinas, denominados habitualmente “matrix-matched reference materials”). Adicionalmente estos errores en la cuantificación de la concentración de toxinas, también dependen del método utilizado para el análisis y del equipamiento que se utilice incluyendo el tipo de espectrómetro de masas (marca/modelo comercial) y su modalidad de funcionamiento.

Durante el desarrollo de diversos estudios hemos encontrado tanto sobreestimaciones como subestimaciones sustanciales de las concentraciones reales de toxinas. Se ha dedicado últimamente un esfuerzo notable a la reducción o eliminación de este tipo de problemas y se han publicado algunas técnicas que tratan de minimizarlos, para especies de bivalvos determinadas y equipos también determinados, porque cada equipo se comporta de forma diferente, pero la incertidumbre inherente al análisis de bivalvos de especies no estudiadas en esos trabajos, a otras separaciones cromatográficas y a otros equipos, permanece. Esto supone que no debe ser infrecuente que laboratorios distintos estimen concentraciones distintas para la misma muestra incluso cuando las condiciones de conservación son muy similares.

La única forma de tratar de forma segura este problema, hoy por hoy, es medir directamente el efecto por medio de la cuantificación de la concentración en las muestras antes y después de añadir una cantidad conocida de toxina, o bien determinar las concentraciones en varias diluciones de las muestras. Esto, sin embargo, supone al menos duplicar o multiplicar el número de análisis a realizar y, por tanto casi duplicar el coste de los análisis que ya de por sí es elevado y alargar el tiempo del análisis.

6. Falta de muchos patrones y factores de toxicidad

Otro de los problemas del empleo de HPLC-MS/MS para la estimación de la toxicidad de las muestras es que esta ha de estimarse a partir de las concentraciones de las toxinas detectadas y cuantificadas individualmente. Esto presenta varias dificultades en el caso de diversas toxinas ya que pueden estar presentes en las muestras varias toxinas del mismo grupo (dentro del conjunto de las toxinas lipofílicas se engloban cuatro subgrupos: ácido okadaico + dinofisistoxinas, azaspirácidos, pectenotoxinas y yessotoxinas), algunas de las cuales pueden no detectarse (como en el caso de las yessotoxinas, que presentan numerosos derivados de naturaleza desconocida) y de otras puede no disponerse de patrones comerciales y certificados para su correcta cuantificación. En el caso de que algunas toxinas no se detecten, la toxicidad estimada puede ser inferior a la real (en grado dependiente de la concentración que tengan estas toxinas y a su toxicidad). En el caso de que no existan materiales de referencia certificados para alguna de las sustancias, como realmente sucede, la cuantificación de estas toxinas habrá de hacerse asumiendo que el equipo de detección responde a ellas como

a las toxinas del grupo para las que sí se dispone de patrones. Por ello, cualquier cambio de respuesta del equipo puede traducirse en estimaciones incorrectas de la concentración de las toxinas para las que no se dispone de materiales de referencia.

Adicionalmente, es necesario estimar la toxicidad de las muestras en función de las concentraciones de las distintas toxinas obtenidas, y esto depende de la potencia tóxica de cada compuesto y este dato no está disponible para todas las toxinas que se pueden encontrar en los bivalvos.

#### 7.- Especialización del personal

El control oficial por medio de la metodología de HPLC-MS/MS, requiere personal técnico notablemente más especializado que en bioensayo de ratón y otros ensayos. Aunque la utilización de los equipos requeridos se ha simplificado mucho en los últimos años, siguen presentando un alto grado de complejidad que requiere una preparación exhaustiva para poder manejar y controlar su funcionamiento de forma fiable.

La propia complejidad de equipamiento requiere además una relación continua del personal encargado con el funcionamiento del equipo, ya que de lo contrario algunos aspectos del control de su funcionamiento pueden pasar desapercibidos. Estas características suponen que, por un lado, la contratación del personal sea más costosa y, por otro lado, y más importante aún para el funcionamiento de los programas de control, que resulte difícil sustituir al personal a cargo de los equipos en caso de bajas o períodos vacacionales.

#### 1.4.3. Resumen del análisis de costes

Todas la cifras son euros/muestra.

	PSP							
	100muestras/semana				20 muestras/mes			
	B. Ratón	HPLC-Postc.	HPLC-Precol.	Jellett	B. Ratón	HPLC-Postc.	HPLC-Precol.	Jellett
Personal	30.46	46.71	44.64	15.17	27.37	58.61	41.45	15.38
Material	8.95	24.68	28.68	33.68	56.12	52.65	56.09	58.38
<b>Total</b>	<b>39.41</b>	<b>71.39</b>	<b>73.32</b>	<b>48.85</b>	<b>83.49</b>	<b>111.26</b>	<b>97.54</b>	<b>73.76</b>
Total anual	204944.35	371225.00	381279.40	254011.63	20037.75	26703.46	23409.00	17703.18

	DSP					
	100muestras/semana			20 muestras/mes		
	B. Ratón	HPLC-MS	Fosfatasas	B. Ratón	HPLC-MS	Fosfatasas
Personal	33.83	31.98	15.69	30.02	33.94	19.05
Material	12.24	44.34	34.43	75.49	81.11	55.80
<b>Total</b>	<b>46.06</b>	<b>76.32</b>	<b>50.12</b>	<b>105.51</b>	<b>115.04</b>	<b>74.85</b>
Total anual	239520.35	396876.35	260602.85	25323.35	27609.78	17962.95

	100 muestras/semana							
	PSP				DSP			
	Ratón	HPLC-Post	HPLC-precol	Jellett	Ratón	HPLC-MS	Fosfatasas	

Instalaciones	2.83	6.49	6.53	1.39	3.57	13.40	1.99
Mantenimiento	1.28	5.81	5.81	0.09	1.28	12.02	0.13
Fungibles mantenimiento	2.80	0.12	0.12	0.12	2.80	1.88	0.00
Personal mantenimiento	3.63				3.63	4.20	
Personal preparación muestra	19.40	13.04	24.35	12.03	27.07	16.20	9.32
Material preparación muestra	0.77	3.95	3.95	0.47	1.23	2.68	2.54
Reactivos+ preparación muestra	0.70	3.22	0.65	0.57	2.39	0.38	0.37
Personal determinación	4.92	29.93	10.75	1.45	0.62	5.45	4.49
Material determinación	0.19	4.75	11.18	29.70	0.19	13.64	29.09
Eliminación residuos	0.13	0.09	0.20	1.10	0.53	0.09	0.06
Personal evaluación resultados	2.51	3.74	9.54	1.69	2.51	6.13	1.88
Acreditación	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
<b>Total</b>	<b>39.41</b>	<b>71.39</b>	<b>73.32</b>	<b>48.85</b>	<b>46.06</b>	<b>76.32</b>	<b>50.12</b>

	20 muestras/mes						
	PSP				DSP		
	Ratón	HPLC-Post	HPLC-precol	Jellett	Ratón	HPLC-MS	Fosfatasas
Instalaciones	9.69	11.54	14.86	6.02	20.36	32.15	7.15
Mantenimiento	6.33	9.33	10.02	6.00	7.80	25.21	5.21
Fungibles mantenimiento	27.50	4.91	0.29	0.16	27.50	0.64	0.00
Personal mantenimiento	0.48				0.48	3.50	
Personal preparación muestra	20.11	12.03	23.55	12.03	27.07	16.20	11.77
Material preparación muestra	2.12	10.04	7.04	7.04	6.87	4.15	2.69
Reactivos+ preparación muestra	3.50	1.82	1.84	0.00	4.12	0.03	0.72
Personal determinación	4.92	43.50	9.01	2.32	0.62	8.76	5.42
Material determinación	0.21	9.89	15.54	32.67	0.21	13.77	35.00
Eliminación residuos	1.78	0.12	1.50	1.50	1.78	0.19	0.03
Personal evaluación resultados	1.86	3.09	8.89	1.04	1.86	5.48	1.86
Acreditación	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
<b>Total</b>	<b>83.49</b>	<b>111.26</b>	<b>97.54</b>	<b>73.76</b>	<b>103.66</b>	<b>115.07</b>	<b>74.85</b>

## 1.5. Impacto sobre la acreditación

No se prevén dificultades para la acreditación de ninguna de las técnicas estudiadas.

## 2. Evaluación del impacto de los niveles máximos permisibles



## 2.1. Impacto sobre las técnicas utilizables

### 2.1.1. Límites de detección/cuantificación para todas las técnicas utilizadas

#### 2.1.1.1 Técnicas para PSP

Los límites de detección son diferentes para las distintas técnicas empleadas. Dos de las técnicas son analíticas y, por tanto, pueden dar una respuesta individualizada para cada toxina, aunque con algunas limitaciones tanto en el caso del HPLC con oxidación precolumna como postcolumna (aunque de menor importancia en este último caso). Las otras dos técnicas cuantifican globalmente la mezcla de toxinas (kits Jellett) o su toxicidad (bioensayo de ratón) y dan por tanto una sola medida para cada muestra.

Los niveles máximos permisibles, en vigor y los recomendados por EFSA fueron recopilados recientemente por este último organismo y se dan en la sección siguientes.

Los límites de detección de las técnicas de análisis cromatográfico de toxinas paralizantes empleadas en este estudio pueden ser usados como referencia pero en general estos límites dependen mucho del método cromatográfico preciso empleado y del equipamiento. En la tabla siguiente se aportan como referencia los límites de detección obtenidos en nuestros laboratorios y los de otros estudios que usan las mismas técnicas pero métodos no estrictamente iguales. Ya que ambas técnicas comparten la detección fluorimétrica, la sensibilidad y características del detector pueden modificar considerablemente los límites de detección y cuantificación. De igual manera, la utilización de columnas cromatográficas de pequeños diámetros puede mejorar la sensibilidad. En nuestro caso, hemos empleado detectores de fluorescencia monocanal y no de última generación y columnas de 4.6 mm de diámetro interno, por lo que podemos considerar que los límites aportados se pueden mejorar considerablemente en caso de que sea necesario.

Tabla 2.II. Límites de detección de la toxicidad PSP (en  $\mu\text{g eq-STX/kg}$ ) de las principales toxinas PSP con cromatografía con oxidación Precolumna y postcolumna en este estudio y en el de Rourke et al (2008).

	Precolumna	Postcolumna	Precolumna	Postcolumna
	Este estudio	Este estudio*	Rourke et al (2008)	Rourke et al (2008)
GTX4	151	76	280	160
GTX1	151	120	280	410
dcGTX3	29.9	3	98	25
dcGTX2	29.9	3	98	67
GTX5	4.45	5	150	90
GTX3	52.9	10	80	38
GTX2	52.9	16	80	150
neoSTX	63.8	44	280	230
dcSTX	33.7	30	200	210
STX	69.1	46	300	390
C1	7.6	7.3	0.2	7
C2	7.6	1.6	0.2	15
C3		0.6	5	7
C4		1.0	5	41

\*Cuantificación de las Cs por hidrólisis a sus GTXs correspondientes

El bioensayo de ratón, cuantifica la actividad de la mezcla de toxinas y por tanto, su fiabilidad no se ve lastrada por su capacidad para distinguir toxinas individuales en la mezcla y puede considerarse una medida poco sesgada de la toxicidad real presente en las muestras. Tal como se aplica en INTECMAR, en el programa de control de biotoxinas PSP, tiene un límite de detección de  $380\mu\text{g eq-STX/kg}$  de vianda. Ese

límite hace que esta técnica se utilizable con los niveles actuales, pero no con los sugeridos por EFSA, que en caso de adoptarse excluirían el uso de esta técnica para llevar a cabo el control.

De los datos obtenidos en durante este estudio, así como de otros ya publicados, puede observarse que las dos técnicas analíticas presentan límites de detección que están notablemente por debajo de los requerimientos actuales y por debajo también, aunque con menos margen, de los niveles sugeridos por EFSA. Por tanto, desde el punto de vista de los niveles, estas dos técnicas serían viables para el control, tanto si se mantienen los niveles actuales como si se adoptan los sugeridos por EFSA.

La técnica de Jellett, al igual que el bioensayo de ratón, no cuantifica individualmente las toxinas, pero al contrario que dicho bioensayo no mide la toxicidad de la mezcla sino que estima la concentración total de toxinas en la muestra. Sin embargo, la contribución de cada una de ellas al total está sesgada a su reactividad cruzada con la toxina de referencia, que es la saxitoxina. La reactividad cruzada es muy diferente para las distintas toxinas PSP, y las toxinas menos reactivas, y por tanto las que menos peso tienen al estimar la respuesta del test, no son las menos tóxicas, como puede apreciarse en la tabla que se adjunta. Por tanto los límites de detección de los kits Jellett son variables con las proporciones de las distintas toxinas en las mezclas que se dan en los organismos cuya toxicidad se pretende estimar.

Tabla 2.III. Reactividades cruzadas y toxicidades específicas de algunas toxinas PSP en el Jellett rapid test (según Laycock et al 2010)

**Cross-reactivities ( $X_i$ ) and specific toxicities ( $Y_i$ ) relative to saxitoxin (molar concentrations).**

	STX	dcSTX	NEO	GTX2/3	dcGTX2/3	GTX1/4	B1	C1/2
$X_i$	1.00	0.40	0.21	0.93	0.05	0.03	0.40	0.07
$Y_i$	1.00	0.51	0.92	0.42	0.20	0.92	0.06	0.02

Tabla 2-IV. Toxicidades y límites de detección para mezclas de saxitoxina con otras toxinas del grupo, del Jellett rapid test (según Laycock et al 2010)

Toxicities at the limit of detection (LOD) for simple equimolar mixture of analogues.

					Toxicity at LOD $\mu\text{g}$ STX eq/100 g	
					Calculated	Found
1	STX		GTX2/3	B1	16	10-15
2	STX			B1	19	15-20
3	STX		GTX2/3		18	15-20
4	STX	NEO			39	25-35
5	STX	NEO	GTX2/3	GTX1/4	38	25-35
6	STX	NEO		GTX1/4	44	35-40
7	STX	NEO	GTX2/3	GTX1/4	32	25-35
8	STX	NEO	GTX2/3	GTX1/4 (50%)	58	45-50
9	STX	NEO	GTX2/3	GTX1/4 (70%)	95	80-90
10	STX	NEO		GTX1/4 (70%)	116	60-70

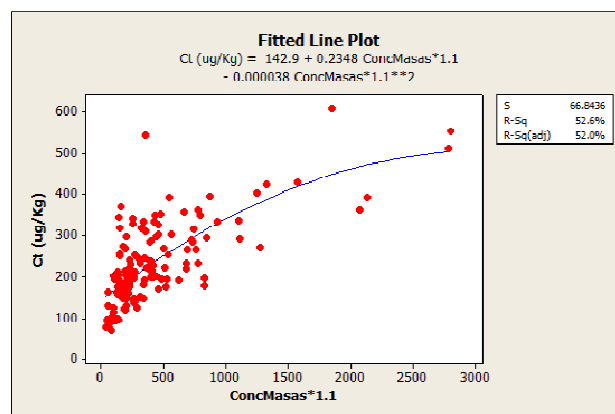
### 2.1.1.2. Técnicas para DSP

El bioensayo de ratón para toxinas lipofílicas tiene diferentes límites de detección para los distintos grupos de toxinas que es capaz de detectar. En el grupo de las toxinas DSP propiamente dichas -del grupo del ácido okadaico- en el que se centró nuestro estudio, el límite de detección con un período de observación de los ratones de 24 horas, es el nivel actual de cierre de explotación, es decir, 160  $\mu\text{g}$  de equivalentes de ácido okadaico/kg de vianda. Con un período de observación de 48 h es posible detectar toxicidades más bajas pero la incertidumbre de las determinaciones es muy alta, por lo que no puede definirse un límite de detección más preciso.

El límite de detección de las técnicas de HPLC-MS o MS/MS con interfase electrospray (que es la utilizada generalmente) es muy dependiente de la propia técnica (MS o MS/MS), del método cromatográfico, de tipo

de espectrómetro de masas que se utilice (trampa iónica 3D, trampa iónica lineal, triple cuadrupolo,...) e incluso de la marca y modelo del equipo. La mayor parte de nuestro trabajo se llevó a cabo con un equipo de trampa iónica 3D y en el que límite de detección estuvo en torno al los 20 µg de ácido okadaico/kg de vianda. Durante la prórroga del proyecto pudo utilizarse un triple cuadrupolo, con el que se consiguieron límites de detección de 2.75 µg de OA/kg de vianda. Con este equipo otras toxinas lipofílicas pueden detectarse en el mismo cromatograma con límites de detección dependientes de cada una de ellas. De cualquier manera, ya que las diferencias entre equipos pueden ser grandes, estos resultados pueden no ser extrapolables a otros equipos y cada uno de ellos debería ser estudiado de forma detallada para asegurar un límite de detección que esté notablemente por debajo del límite de cierre establecido.

El ensayo de inhibición de fosfatasa probado, como puede observarse en la figura 2.9, tiene un límite de detección aproximado (en relación con las determinaciones por HPLC- MS/MS) de 70 µg eq OA/kg. El límite de detección obtenido es intermedio entre los valores de límite de detección (30 µg/kg) y de cuantificación (85 µg/kg) dados por el fabricante, pero probablemente los compuestos presentes en la matriz hagan imposible la obtención de los mismos resultados que se obtienen con patrones. Recientemente este test ha sido sustituido por otro de similares características pero que utiliza detección por absorbancia en lugar de por fluorescencia. El límite de detección de esta técnica es, según el fabricante, similar, pero las pocas pruebas que han podido realizarse en este proyecto hacen pensar que en situaciones reales el límite es más bajo que con la técnica anterior.



**Figura 2. 9** Relación entre la concentración de ácido okadaico estimada por el ensayo de inhibición de fosfatasa y por HPLC-MS (una vez corregido para la recuperación)

## 2.1.2. Exclusión de técnicas dependiendo de niveles fijados

### 2.1.2.1. Válidas con niveles ½ de los actuales (ración de 400g)

Si consideramos una posible reducción de los niveles máximos permisibles para ajustar la ingesta máxima actual a un tamaño de ración superior, en torno al doble que la generalmente asumida en la actualidad (en torno a los 200g de vianda de molusco bivalvo). Para la toxicidad de tipo PSP todas las técnicas probadas tendrían límites de detección inferiores al nivel requerido (400µg eq-STX/kg), con la posible excepción del test de Jellett en el caso de la presencia de perfiles tóxicos muy concretos, como ya se comentó anteriormente.

La situación con toxinas DSP es diferente, sin embargo. El nivel objetivo en este caso sería 90 µg eq-OA/kg. El bioensayo de ratón ya no sería una técnica apta para realizar el control y el ensayo de inhibición de fosfatasa estaría muy en el límite, con las incertidumbres que esto conlleva. El nuevo test de inhibición de fosfatasa, con un límite de cuantificación dado por el fabricante de 56 µg eq-OA/kg, podría resultar de utilidad para el control, aunque, como ya comentamos, nuestras pruebas de este test no han sido exhaustivas. Las técnicas de HPLC-MS y MS/MS podrían ser utilizadas sin problemas en relación a los niveles detectables.

### 2.1.2.2. Válidas con los niveles que sugiere EFSA

Durante el desarrollo de este proyecto, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha venido sugiriendo cambios en los niveles permisibles de toxicidad para distintos grupos de toxinas. En general, estas sugerencias llevan a una rebaja de los niveles y se fundamentan en un tamaño de ración mayor que el contemplado hasta ahora y en una reevaluación de los datos epidemiológicos existentes. Los límites sugeridos se dan en la tabla siguiente. En **negrita** figuran las toxinas contempladas en este estudio.

Tabla 2. V. Niveles máximos permisibles en la actualidad y sugeridos por EFSA para las principales toxinas lipofílicas

Grupo	límite actual	sugerido EFSA	Unidades
OA (DSP)	160	45	µg OA eq./kg
PSP	800	75	µg STX eq./kg
PTX	160	120	µg PTX2 eq./kg
AZA	160	30	µg AZA1 eq./kg
YTX	1	3.75	mg YTX eq./kg
DA	20	4.5	mg DA/kg

Con estos niveles como objetivo, para la monitorización de toxinas PSP no sería posible usar el bioensayo de ratón. La técnica de Jellett presentaría las mismas limitaciones que se comentaron en el apartado anterior y las dos técnicas cromatográficas podrían ser utilizadas.

Para las toxinas DSP, únicamente podrían ser utilizadas las técnicas cromatográficas ya que tanto el bioensayo de ratón como la técnica de inhibición de fosfatasa tienen límites de detección superiores a límite que sería establecido. La nueva técnica de inhibición de fosfatasa podría tener el límite de detección justo en el nivel de cierre, lo cual disminuiría sustancialmente la fiabilidad de los resultados y habría que evaluar detalladamente su comportamiento para descartarla o no como herramienta de control.

## 2.2. Impacto sobre el coste económico de los cierres

### 2.2.1. Cambio de días de cierre en los mismos escenarios considerados para los niveles de las técnicas

#### 2.2.1.1. PSP

Tal como se comentó al tratar las repercusiones económicas de los niveles de detección de la técnica de Jellett, las rebajas de niveles efectivos de cierre llevan a alargamientos considerables de los períodos de prohibición de la explotación de los bivalvos.

Si consideramos una reducción de los niveles permisibles de PSP a la mitad de los actuales (400 µg eq-STX/kg), el alargamiento de los cierres se aproximaría mucho al nivel de detección del bioensayo de ratón (380 µg eq-STX/kg). En esta situación, y en un escenario de 25 días de cierre al año (ej. año 2009), la duración de estos aumentaría 10 días, lo cual supone aproximadamente un 48% de alargamiento en cada zona y un 40% cuando se considera el conjunto de las zonas afectadas. La misma situación se da cuando se realizan los mismos cálculos para un episodio que produjo el doble de días de cierre (2005) obteniéndose incrementos porcentuales del mismo orden. Los dos episodios comentados fueron originados por *Gymnodinium catenatum* y tuvieron una distribución relativamente amplia en las rías.

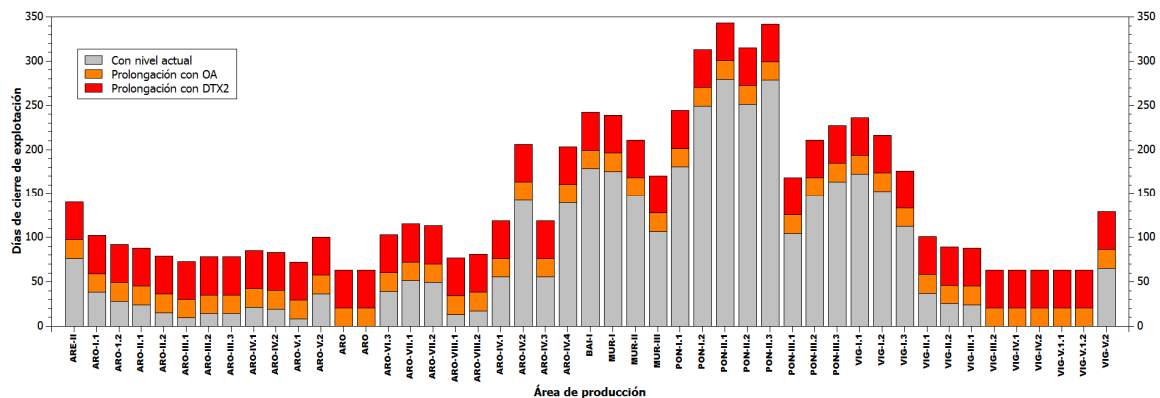
En el caso de una reducción a los niveles sugeridos por EFSA, los alargamientos calculados serían de 26 días para el episodio de 25 días de duración y de 49 días para el de 50 días, es decir, los días de cierre se duplicarían al aplicar estos niveles, con un impacto esperable realmente alto. Para los episodios de *Alexandrium minutum* esta cifra sería un mínimo absoluto, por lo que los alargamientos serían aún de mayor entidad.

En el caso de episodios de *Alexandrium minutum* la incidencia en días de cierre es aún mayor, ya que es más frecuente que esta especie se desarrolle en algunas zonas muy determinadas de las rías pero sin llegar a concentraciones suficientes para producir cierres con los niveles actuales y, por tanto, una rebaja de los niveles llevaría a alargamientos de los cierres sustancialmente mayores que los calculados para *Gymnodinium catenatum*. En dos episodios de 18 y 20 días de duración de cierre, que tuvieron lugar en la Ría de Ares y Betanzos, utilizando el límite de detección del bioensayo de ratón, los cierres se incrementarían en 21 días en los dos casos, lo cual supone un incremento del 116 y del 96% respectivamente, que sería aproximadamente el que corresponde a el cambio de nivel derivado del cambio de tamaño de la ración. En el caso de los niveles sugeridos por EFSA, únicamente podemos estimar, a partir de la prolongación anterior, la extensión adicional

debida al período de eliminación de toxina, pero no al adelanto durante la adquisición de la misma, por lo que nuestras estimaciones suponen muy probablemente una subestimación del impacto real. En este último caso, los cierres se prolongarían 37 días, en ambos casos, lo que supone incrementos del 206% y del 168%, respectivamente. En cualquier caso el impacto global sobre el sector no resultaría tan elevado como sugieren estas cifras porque estos episodios afectan a un porcentaje pequeño de las zonas de cultivo.

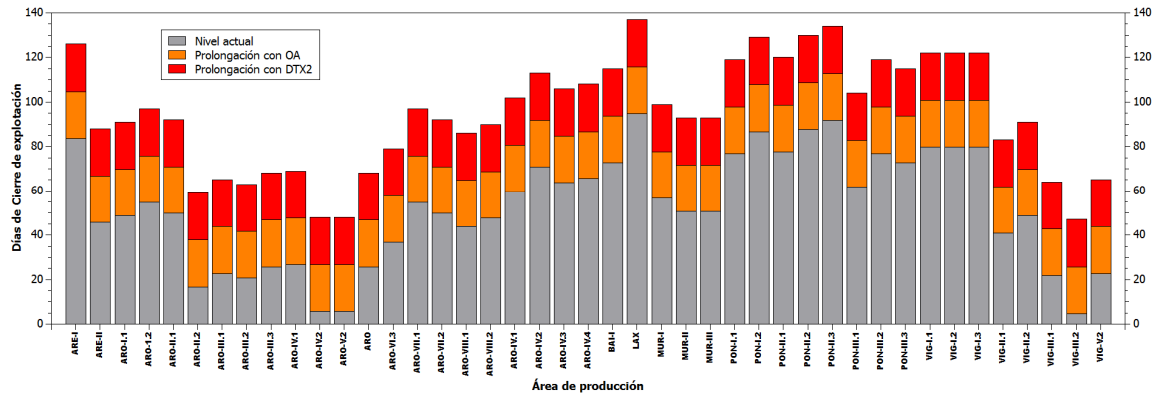
### 2.2.1.2. DSP

En el año 2000, un año de mucha incidencia de las toxinas DSP, en el que las áreas de producción afectadas estuvieron cerradas para la explotación un promedio de 80 días, el alargamiento mínimo que se produciría si se adoptaran los niveles sugeridos por EFSA, sería de 21 días, en el caso de que la toxina principal fuese el ácido okadaico y 42 días en el caso de que fuese la DTX2. Esto supondría en términos generales, prolongaciones de los cierres de un 26 y un 52%, respectivamente. Si se analiza la situación para cada área de producción, los incrementos promedio, para cada una son mucho mayores que los generales, suponiendo el 56 y el 110% de incremento promedio para el ácido okadaico y la DTX2, respectivamente. Además, algunas áreas que no llegaron a cerrarse pero que alcanzaron niveles próximos al cierre (muerte de ratones antes de las 48h) tendrían que cerrarse aproximadamente durante los períodos comentados, dependiendo de la toxina implicada. Estas dos últimas observaciones suponen que se produciría una notable ampliación del grado de generalización de los cierres, que como se puede apreciar en los datos aportados por el anexo I es uno de los factores que mayor impacto económico tienen.



**Figura 2. 10** Prolongaciones estimadas de los períodos de cierre en las zonas de cultivo en un año con incidencia de DSP elevada (año 2000) para el caso de que se aplicasen los niveles sugeridos por EFSA.

En el año 2007, de menor incidencia de DSP, con 53 días de cierre promedio, las prolongaciones medias de los cierres serían del 40 y el 80% para intoxicaciones con ácido okadaico y DXT2, respectivamente. Como en el caso anterior, los cálculos individualizados para cada área, arrojan impactos notablemente superiores, con medias de los porcentajes de alargamiento por zona de producción del 69 y del 138% para OA y DTX2, respectivamente.



**Figura 2. 11** Estimación de la prolongación de los períodos de cierre por DSP si se aplicaran los niveles EFSA en un año de baja incidencia de DSP (2007)

El impacto de los niveles derivados del aumento de ración, serían de aproximadamente la mitad de los comentados para los niveles EFSA.

### 2.2.2. Impacto económico

#### 2.2.2.1. PSP

Como ya se comentó anteriormente, el impacto económico preciso es muy difícil de calcular porque afectan un buen número de variables, cuyo efecto se trata con detalle en el Anexo 2.I. Desde el punto de vista de los productores individuales, con sus instalaciones de cultivo concentradas en una o pocas zonas de cultivo, los alargamientos de los cierres por episodios de *Alexandrium minutum* derivados de un posible cambio de nivel afectarían de forma sustancial en las zonas en las que se producen estas proliferaciones. *A. minutum*, en Galicia, suele proliferar en primavera y en otoño. Pasar de cierres de 20 días a cierres de 40 (nivel basado en aumento de ración) o incluso de 60 días (nivel EFSA) puede tener un efecto económico importante especialmente en los episodios de otoño, ya que pueden impedir la venta del producto en la época en que mayor precio alcanza (v. Anexo 2.I).

De todas formas, desde el punto de vista general, este tipo de episodios tienen poca importancia porque afectan a un número reducido de zonas de producción y, por tanto, los alargamientos de los cierres en estos episodios no tendrían más que una importancia local.

Las prolongaciones de los cierres por *Gymnodinium catenatum*, que suelen producirse en primavera y otoño pero principalmente en esta última estación, sí pueden tener, sin embargo, un notable impacto general. Los episodios de esta especie suelen afectar a un buen número de áreas de producción simultáneamente, lo cual lleva a una generalización geográfica de los cierres y además principalmente en la época de mayor comercial (v. explicación detallada en Anexo 2.I). Los cierres, que con la aplicación de los niveles sugeridos por EFSA, por ejemplo, podrían alargarse casi un mes en episodios que actualmente generan cierres de 50 días, producirían un desabastecimiento del mercado durante prácticamente 3 meses durante la época de mayor valor comercial del producto y llevarían, además, a que una gran biomasa de mejillón de tamaño comercial tuviera que permanecer en las bateas durante los temporales de invierno, lo cual llevaría a notables pérdidas de cultivo por desprendimiento (v. Anexo 2.I).

Los cierres de más corta duración y/ extensión de esta especie, como los que se producen en primavera, al no reunir estos dos componentes de generalización y de época de alto valor comercial deben tener un impacto económico notablemente inferior.

## 2.2.2.2. DSP

Desde el punto de vista del impacto sobre los productores individuales, el porcentaje de alargamiento de los cierres en las distintas zonas muestra que, en algunos casos, el impacto puede ser alto. Desde un punto de vista general, como efecto secundario del alargamiento, y como en el caso de los episodios de PSP orifinados por *G. catenatum*, se produce una generalización de los cierres que tiene un notable impacto económico en el conjunto. En cualquiera de los dos casos, el tipo de toxina implicada -ácido okadaico o DTX2- y la época del año en la que se produzcan los episodios (v. Anexo I) son clave para poder evaluar el impacto. Por los datos de que disponemos, los episodios de DSP que se dan en Galicia son fundamentalmente de dos tipos: a) originados por *Dinophysis acuminata* y b) originados por *Dinophysis acuta*. *D. acuminata* en esta área geográfica, habitualmente no produce DTX2, sino únicamente ácido okadaico y sus proliferaciones suelen darse en primavera o verano. *D. acuta* en Galicia produce ácido okadaico y DTX2 y sus proliferaciones suelen darse en el otoño llegando incluso al principio del invierno. Estas características hacen que tras las proliferaciones de *D. acuminata* los cierres sean relativamente más cortos que tras las de *D. acuta*, porque el ácido okadaico se elimina más rápidamente que la DTX2 de los mejillones (aproximadamente el doble de rápido), y que, por otra parte, las pérdidas económicas sean más importantes en los episodios de la segunda especie porque afectan a la época del año de mayor valor comercial del producto y porque los temporales del invierno pueden producir mayores desprendimientos de la masa de cultivo no vendida (v Anexo 2.1). Resulta, además, evidente que la rebaja de niveles producirá prolongaciones de los cierres mayores cuando los mejillones hayan acumulado DTX2, lo cual se produce fundamentalmente en las proliferaciones de *D. acuta* en otoño.

## 3. Complementariedad de las técnicas

### 3.1. Técnicas utilizables como criba

De las técnicas contempladas en este estudio dos podrían ser utilizadas como criba: kits Jellett para PSP y kits Toxiline para DSP. El bioensayo de ratón por los motivos ya comentados no puede utilizarse para este fin, y las técnicas cromatográficas son demasiado complicadas y laboriosas para ello.

Los kits de Jellett, con las muestras probadas en este estudio podrían haberse utilizado como criba para determinar las que contienen toxinas PSP. Sin embargo, está documentado que estos kits presentan una notable falta de sensibilidad para las toxinas PSP hidroxiladas y, aunque estas son frecuentes en los episodios de *Alexandrium minutum* de Galicia, en las muestras disponible en este estudio no fue así, por lo cual la incertidumbre sobre si está técnica puede ser útil o no, permanece. Un cambio en la regulación de los niveles máximos permisibles de toxinas PSP haría, sin duda, a esta técnica inútil para la criba, aunque su utilización para un posible cribado inverso, que se describe en la técnica de Toxiline, podría ser viable (con los niveles actuales no lo es porque da un gran número de falsos positivos con muchos perfiles de toxinas).

Los kits Toxiline-DSP de inhibición de fosfatasas permiten cuantificar la actividad de las toxinas DSP de forma adecuada. No obstante, la normativa europea exige no sólo la monitorización de las toxinas DSP propiamente dichas sino también la de otros grupos de toxinas lipofílicas, por lo cual esta técnica resulta inutilizable como criba estándar, es decir, para decidir qué muestras están libres de toxina y cuales se han de analizar en más detalle. Puede ser utilizada, sin embargo, para elegir, durante períodos de cierre por toxicidad DSP, qué muestras habrá que analizar en detalle de cara a determinar si los mejillones ya han depurado suficiente toxina como para que pueda permitirse la comercialización. Este posible uso, es independiente de que se produzcan cambios en la normativa que regula los niveles, ya que en caso de que estos se rebajasen, el único efecto en el cribado que acabamos de describir sería que habría que analizar con otras técnicas un mayor número de muestras. Una ventaja importante que podrían aportar estos kits es que los resultados se obtendrían muy rápidamente.

### 3.2. Técnicas utilizables como referencia

Todas las técnicas presentan problemas. Por tanto, estrictamente hablando, ninguna de ellas puede utilizarse como referencia. Por su larga tradición de protección de los consumidores (más de 50 años en el caso de



PSP), y porque realmente realizan una medida directa de toxicidad, los bioensayos de ratón, en nuestra opinión, deben usarse como referencia.

### 3.3. Cambio de costo con el uso conjunto

Así como el cálculo del costo o el beneficio económico de sustituir completamente una técnica por otra resulta sencillo, no lo es el cálculo de la sustitución parcial de una técnica por otra, mediante su uso conjunto. Esto es especialmente cierto cuando se trata de un programa de control, en donde el análisis de un cierto número de muestras diariamente tiene que estar asegurado, independientemente de la técnica que se utilice. Por tanto, en un programa de este tipo, si no se puede definir exactamente el porcentaje de trabajo que se atribuye a cada técnica, resulta necesario tener todo el material y el personal necesarios para llevar a cabo todo el control con una de las técnicas. En tal caso, el menor coste de la técnica complementaria en cualquiera de estos aspectos no podría aplicarse, con lo cual el ahorro de costes que podría producir el uso de una técnica en exclusiva, no se da, o se ve muy reducido. Por ejemplo, la técnica de fosfatasas tiene mucho menos coste de material inventariable que el HPLC-MS, pero su uso conjunto, sin saber cuantas muestras se van a poder analizar por fosfatasas, no reduce ni el número ni el coste del o de los sistemas de HPLC-MS que el laboratorio debe tener.

Como comentamos anteriormente, el uso de los test de Jellett para la criba de muestras para análisis de PSP con los niveles actuales es arriesgado y además, en caso de utilizarse para sustituir parcialmente al bioensayo de ratón, resultaría más caro que éste. La diferencia estimada con el uso exclusivo de cada técnica es de aproximadamente 9 €/muestra, como puede deducirse de las tablas de coste. En el uso conjunto sin embargo habría que mantener el personal necesario para realizar el bioensayo de ratón, en caso de que fuese necesario, así como las instalaciones, pero habría que añadir el coste de los kits y del lector de placas, con lo que resultaría aproximadamente 44 €/muestra más caro usar la estrategia combinada. Esto no sería así, en caso de que el personal se pudiese reducir, pero aún eliminando el coste completo del personal el uso combinado supondría un coste adicional sobre el ratón de unos 24 €/muestra.

En caso de que los niveles permisibles se redujesen a los niveles de EFSA el bioensayo de ratón no sería utilizable y por tanto sería probablemente necesario usar una de las técnicas cromatográficas contempladas en este estudio. En ese caso, utilizando estos tests para el cribado inverso se podrían ahorrar los fungibles de funcionamiento de las técnicas cromatográfica, que suponen 12 y 16€/muestra aproximadamente, pero habría que sumarle el coste por muestra del uso de los kits Jellett, por lo que la combinación saldría 37 ó 32 €/muestra más cara.

En el caso del test de fosfatasas, su uso para el cribado inverso no supondría un incremento o disminución de coste en relación al bioensayo de ratón, siempre y cuando la reducción de coste de personal pudiera ejecutarse. En caso contrario, el uso de esta técnica resultaría 25€/muestra más caro que con el bioensayo en exclusiva. Sustituyendo parcialmente al HPLC-MS/MS supondría un coste adicional de 20€/muestra, en caso de que, como es probable, no se puede ejecutar una reducción del coste de personal ni del material.

Las decisiones, por tanto, de combinación de técnicas han de tomarse con cautela y teniendo en cuenta que, en general, suponen un aumento considerable de coste de los programas de control salvo que el trabajo con cada una de las técnicas pueda fijarse de forma definitiva y el personal y el material se adecuen a las necesidades fijadas. No parece, de interés económico el combinar técnicas por lo cual es una posibilidad que debería descartarse en caso de que no ofrezca ventajas operativas que compensen el coste adicional.

### 3.4. Cambio de tiempo de respuesta con el uso conjunto

Como ya comentamos, la operatividad de los tests puede ser la única razón de peso para asumir el coste adicional que suponen en un programa de control.

En el caso de los tests de Jellett, el tiempo de determinación no es sensiblemente inferior al de respuesta de los ratones en el bioensayo, por lo que, en la situación actual no supone un beneficio real. En caso de reducción de niveles máximos tolerables y de su uso para cribado inverso, mientras se requiere el uso de HPLC para las determinaciones finales, los tiempos de respuesta podrían acelerarse sustancialmente ya que se puede realizar un buen número de determinaciones cuasi-simultáneas con estos kits, mientras que esto resulta imposible con HPLC. En este caso, permitirían reducir el número de muestras a analizar con HPLC y, por tanto a acortar los tiempos requeridos para realizar cierres o aperturas.

En el caso de los tests de fosfatasas la situación es similar, si bien presentan algunas ventajas adicionales. La primera de ellas es que su uso podría ser factible en la actualidad ya que la respuesta de bioensayo de ratón para DSP es notablemente más lenta que para PSP. La segunda es que permite obtener resultados

cuantitativos para la actividad de fosfatasas, que es proporcional a la cantidad de toxinas y a su potencia tóxica. Esta característica permitiría planificar mejor los muestreos que una respuesta de presencia/ausencia.

## E) CONCLUSIONES

1.- Los nuevos sistemas de control de biotoxinas que se proponen no son estrictamente equivalentes al bioensayo de ratón. Para las toxinas PSP las dos técnicas de HPLC subestiman la toxicidad estimada por el ratón (en mayor grado en el caso del HPLC con oxidación Precolumna), con lo cual su aplicación resultaría en una mayor permisividad en la práctica, aunque con muy poca incidencia en la duración de los cierres. La técnica de Jellett, en las muestras probadas dió muchos resultados positivos en relación al bioensayo de ratón y por esta razón y por sus características generales no parece que resulte de mucha utilidad. Para las toxinas DSP, ni los test de inhibición de fosfatasas ni el HPLC-MS dieron resultados completamente concordantes con el bioensayo de ratón, aunque en promedio el nivel de cierre es el mismo. Su utilización no generaría diferencias en tiempos de apertura o cierre de explotación pero sí se generarían falsos positivos y negativos.

2.- Algunos de los nuevos sistemas tienen más sensibilidad que el bioensayo de ratón, especialmente en DSP. Las técnicas cromatográficas permiten identificar el origen de la toxicidad y evitar algunos posibles falsos positivos del ratón. Sin embargo, su uso en un programa de control es caro, complicado y presenta el riesgo de interrupciones del control por averías del equipamiento o problemas con el personal técnico especializado. Adicionalmente, se adaptan mal a los cambios repentinos de necesidades de análisis, y en algunos casos requieren más tiempo que el bioensayo de ratón. La inexistencia de algunos patrones de toxinas y el hecho de que esas mismas técnicas puedan dar falsos positivos por efectos matriz, añaden importantes limitaciones a su uso generalizado.

3. Algunos de las técnicas, fundamentalmente las rápidas (kits Jellett y de fosfatasas) podrían usarse como complemento de las técnicas habituales de control. Los tests Jellett, para PSP, sin embargo, presentan algunos inconvenientes que los hacen poco útiles con los niveles tolerables de toxinas en la actualidad. En caso de que estos se rebajasen sustancialmente podrían llegar a tener utilidad como complemento de la cromatografía. Los tests de fosfatasas podrían usarse en la actualidad.

4. Los análisis con las nuevas técnicas resultan más caros que con el bioensayo de ratón. La complementación de técnicas, en general, en un programa de control no reduciría, sino que más bien aumentaría el coste por muestra del sistema, probablemente de forma sustancial, por lo que han de considerarse más las cuestiones de operatividad que las de coste.

5. Los cambios en los niveles permisibles de biotoxinas el mejillón, si son de la entidad sugerida por EFSA, llevarían a la sustitución del bioensayo de ratón por técnicas cromatográficas, lo cual supone un encarecimiento del control además un incremento del riesgo de interrupciones del mismo por cuestiones técnicas. La rebaja de niveles llevaría a un alargamiento de los cierres de más del 50% en casi todos los casos, pudiendo llegar a más del 200% y además supondría, la generalización de los cierres y el cese de actividad en épocas de precio elevado del producto, con la consecuente repercusión inmediata en la

economía de los productores. Los episodios más intensos habitualmente de *Gymnodinium catenatum* y *Dinophysis acuta*, serían los que verían sus efectos más aumentados.

6. Se ha usado información de este proyecto para asesorar al la Administración en relación a los impactos de los niveles propuestos por EFSA y en los posibles problemas que surgen el uso de la espectrometría de masas para el control rutinario en programas de monitorización de toxinas lipofílicas.

7. Se han tipificado los factores más importantes de la producción que pueden afectar al impacto económico de los episodios tóxicos.

En general, por tanto, se ha conseguido evaluar el impacto de las técnicas de control de biotoxinas y de los niveles máximos permisibles en el cultivo del mejillón en Galicia, habilitando una base suficiente de información para comprender las implicaciones que podrían suponer tanto los cambios de niveles como de técnicas de control.

## F) VALORACIÓN

El desarrollo del proyecto ha sido satisfactorio en general y la práctica totalidad de los objetivos se han conseguido.

## G) DIFUSIÓN

Como ya se comentó, una parte de la información se ha utilizado en el asesoramiento a la Administración. Otra parte de la información se presentó en Congresos internacionales (Trieste y Nantes). El grueso de la información obtenida se hará disponible al público en general, bien por medio de su publicación en una o varias revistas de acceso abierto o bien por medio de un sitio web específico.

## H). INCIDENCIAS DE DESARROLLO

Las incidencias principales del proyecto se derivaron de un buen número de cambios relacionados con el mismo y que tuvieron lugar durante su desarrollo. Nuevas técnicas cromatográficas, nuevos niveles máximos sugeridos, nueva normativa y nuevos estudios relacionados con el tema fueron apareciendo a medida que se desarrolló el proyecto. Igualmente la mejora del equipamiento de los laboratorios llevó a desarrollar más trabajo del esperado para evaluar la eficacia de algunos equipamientos aunque de forma no exhaustiva.

## I). BIBLIOGRAFÍA

- Blanco, J., Reyero, M.I. & Franco, J.M., 2003. Kinetics of accumulation and transformation of paralytic shellfish toxins in the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*, *Toxicon*, 42, p. 777–784.
- CEFAS, 2007. *The use of the Jellett rapid testing kit for PSP toxins detection in the UK statutory monitoring programme for marine biotoxins.*
- CRLMB, 2009. Practical aspects of the implementation of 2006-06 AOAC Official Method for the Official Control of PSP toxins: technical issues and pitfalls, [Online] [http://www.aesan.msps.es/CRLMB/docs/docs/ayuda\\_cientifica/CRLMB-WG\\_PSP-HPLC\\_Working\\_Document\\_Technical\\_issues\\_and\\_pitfalls\\_AOAC\\_2005\\_06.pdf](http://www.aesan.msps.es/CRLMB/docs/docs/ayuda_cientifica/CRLMB-WG_PSP-HPLC_Working_Document_Technical_issues_and_pitfalls_AOAC_2005_06.pdf).
- Franco, J.M. & Fernández-Vila, P., 1993. Separation of paralytic shellfish toxins by reversed phase high performance liquid chromatography, with postcolumn reaction and fluorimetric detection, *Chromatographia*, 35 (9-12), p. 613–620.
- Gerssen, A., Mulder, P.P.J., McElhinney, M.A. & de Boer, J., 2009. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the detection of marine lipophilic toxins under alkaline conditions, *Journal of Chromatography A*, 1216, p. 1421–1430.
- Holmes, C.F.B., Luu, H.A., Carrier, F. & Schmitz, F.J., 1990. Inhibition of protein phosphatase-1 and phosphatase-2a with acanthifolicin – comparison with diarrhetic shellfish toxins and identification of a region on okadaic acid important for phosphatase inhibition, *Febs Letters*, 270 (1-2), p. 216–218.
- Hu, T. et al, 1992. New diol esters isolated from cultures of the dinoflagellates *Prorocentrum lima* and *Prorocentrum concavum*, *J. Nat. Prod.*, 55 (11), p. 1631–1637.
- Huhn, J. et al, 2009. A Structural Basis for the Reduced Toxicity of Dinophysistoxin-2, *Chemical Research in Toxicology*, 22 (11), p. 1782–1786.
- Lawrence, J.F., Niedzwiadek, B. & Menard, C., 2005. Quantitative Determination of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins in Shellfish Using Prechromatographic Oxidation and Liquid Chromatography With Fluorescence Detection: Collaborative Study, *Journal of Aoac International*, 88 (6), p. 1714–1732.
- Laycock, M.V., Donovan, M.A. & Easy, D.J., 2010. Sensitivity of lateral flow tests to mixtures of saxitoxins and applications to shellfish and phytoplankton monitoring, *Toxicon*, 55 (2-3), p. 597–605.
- Oshima, Y., 1995. Post-column derivatization HPLC methods for Paralytic Shellfish Poisons. In G.M. Hallegraef, D.M. Anderson & A.D. Cembella, eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Paris: Unesco, p. 81–94.
- Quilliam, M.A., 2003. Chemical method for lipophilic shellfish toxins. In G.M.

- Hallegraeff, D.M. Anderson & A.D. Cembella, eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Paris: UNESCO Publishing, p. 211–245.
- Rourke, W.A. et al, 2008. Rapid Postcolumn Methodology for Determination of Paralytic Shellfish Toxins in Shellfish Tissue, *Journal AOAC*, 91 (3), p. 589–597.
- Torgersen, T., Miles, C.O., Rundberget, T. & Wilkins, A.L., 2008. New Esters of Okadaic Acid in Seawater and Blue Mussels (*Mytilus edulis*), *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 56 (20), p. 9628–9635.
- Turner, A.D. et al, 2009. Refinement and Extension of AOAC Method 2005.06 to Include Additional Toxins in Mussels: Single-Laboratory Validation, *Journal of Aoac International*, 92 (1), p. 190–207.

- J) Se adjunta ANEXO 2.1. Sobre la tipificación de los impactos económicos de los episodios tóxicos en Galicia.

# ANEXO 2.1

**ANALISIS DE LOS IMPACTOS ORIGINADOS POR LAS  
PROLIFERACIONES ALGALES NOCIVAS SOBRE EL  
SECTOR PRODUCTOR DE MEJILLÓN EN GALICIA.**

**CONSELLO REGULADOR DO MEXILLÓN DE GALICIA**

**Diciembre de 2008**

**JACUMAR, "PLAN NACIONAL DE CULTIVO DE  
MITÍLIDOS: EXPANSIÓN Y SOSTENIBILIDAD"**

## **1. INTRODUCCIÓN.**

**MAGNITUDES SECTORIALES.**

**MICROALGAS PRODUCTORAS DE BIOTOXINAS EN GALICIA.**

## **2. ALCANCE Y OBJETIVO DEL ESTUDIO.**

**POLÍGONOS ESTUDIADOS.**

**CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.**

**LIMITACIONES.**

## **3. NIVEL DE IMPACTO: INDIVIDUAL-COLECTIVO.**

## **4. PRODUCCIÓN: VOLUMEN-PRECIO-VALOR.**

**INTRODUCCIÓN.**

**PRODUCCIÓN TOTAL.**

**PRECIOS SEGÚN FORMATO DE PRODUCTO.**

**VOLUMENES SEGÚN FORMATO DE PRODUCTO.**

**FACTURACIÓN SEGÚN FORMATO DE PRODUCTO.**

**DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LA PRODUCCIÓN.**

**CONSUMO EN LOS HOGARES: FORMATOS DE PRODUCTO, EVOLUCIÓN MENSUAL Y ANUAL.**

## **5. VEDAS: GRUPO TOXICO, PRESENCIA GEOGRÁFICA Y TEMPORAL.**

**GRUPO TOXICO CAUSANTE DE LAS VEDAS**

**INTENSIDAD Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS VEDAS.**

**DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS VEDAS - REPRESENTACIÓN GRÁFICA.**

**DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LOS CIERRES POR BIOTOXINAS.**

**GENERALIZACIÓN DE LAS VEDAS**

## **6. INCIDENCIA DE LAS VEDAS EN LA PRODUCCIÓN-OFERTA.**

**COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LA PRODUCCIÓN Y DE LAS BIOTOXINAS.**

**CUANTIFICACIÓN DEL IMPACTO GEOGRÁFICO DE LAS VEDAS.**

## **7. CASUÍSTICA DE LA AFECTACIÓN DE LAS VEDAS.**



# 1. INTRODUCCIÓN.

## MAGNITUDES SECTORIALES.

Las más de 3.300 bateas dedicadas al cultivo del mejillón, junto con las empresas procesadoras y comercializadoras (depuradoras, cocederos y conserveras) y los centros de apoyo (Centros de I+D...) y suministradores, hacen de Galicia un referente mundial en la actividad mejillonera.

Cada año la producción se cifra entre las 250.000 y las 300.000 toneladas, de las que tienen como destino la industria conservera un 35%, los cocederos adquieren un 30% y el 35% restante se comercializa en fresco. Este volumen de producción sitúa a Galicia como líder indiscutible a nivel de toda la UE, acaparando aproximadamente el 45% del volumen total de mejillón cultivado. El mejillón gallego significa además el 80% de la producción acuícola en España y aproximadamente el 95% en Galicia, distribuyéndose el resto entre conchicultura blanca (almejas, berberechos...) y piscicultura.

La mitilicultura es también una importante actividad social y económica en la Galicia costera.

El cluster del mejillón genera unos 11.500 puestos de trabajo, de los que 8.500 son directos, lo que supone por término medio más del 17% de la población activa de los ayuntamientos productores de mejillón<sup>1</sup>.

La economía generada por el conjunto de la industria del mejillón ronda anualmente los 450 millones de euros de los que unos 120 millones se deben a primera venta del producto<sup>1</sup>.

Tres factores propician esta realidad. El modelo de producción basado en unidades de producción familiar integradas en estructuras organizativas-mercantiles de economía social; un sistema de producción -la batea- adaptado al mejor aprovechamiento del recurso alimenticio marino; y las inigualables condiciones de las rías gallegas que generan una altísima productividad primaria lo que permite obtener hasta 25 toneladas de carne de mejillón por hectárea de mar y año. Hecho este que no tiene parangón.

---

<sup>1</sup> García-Erquiaga, E. director (2000). La contribución de la actividad mejillonera al desarrollo local de Galicia. Consello Regulador do Mexillón de Galicia, ed. 178 pg.

## MICROALGAS PRODUCTORAS DE BIOTOXINAS EN GALICIA.

Este último factor, la riqueza fitoplanctónica, a veces trae asociada la proliferación de distintas microalgas productoras de biotoxinas del tipo PSP, ASP y lipofílicas, que provocan la determinación administrativa de cierre -veda- de la extracción del mejillón de las áreas de cultivo.

Estas vedas de los polígonos son uno de los más graves problemas a los que se enfrenta el sector mejillonero, tanto en Galicia como a nivel mundial, por las pérdidas y riesgos que genera, si bien Galicia tiene un sistema de control que podemos calificar como único por excelente.

Las principales especies de microalgas productoras de biotoxinas que originan la prohibición de extracción de mejillón en las rías se recogen en la siguiente tabla.

**Tabla 1.-** Principales especies fitoplactónicas productoras de biotoxinas en las aguas gallegas.

ESPECIE	TIPO DE TOXICIDAD	OBSERVACIONES
<i>Dinophysis acuminata</i>	DSP	Las mayores concentraciones celulares se observan en el período de marzo a octubre (estación de afloramiento) debido al crecimiento <i>in situ</i> en condiciones de estabilidad ambiental. Esta especie puede ser muy persistente causando vedas de hasta 10 meses.
<i>Dinophysis acuta</i>	DSP	Las proliferaciones de esta especie coinciden normalmente con el otoño climatológico, asociadas a procesos de hundimiento de aguas superficiales.
<i>Pseudonitzschia australis</i>	ASP	Prolifera durante el período de afloramiento.
<i>Gymnodinium catenatum</i>	PSP	Sus proliferaciones se producen por la introducción de poblaciones normalmente en otoño y asociadas a procesos de hundimiento de aguas superficiales.
<i>Alexandrium minimun</i>	PSP	Causa vedas en polígonos muy concretos.

Las toxinas lipofílicas-DSP son producidas, en Galicia, fundamentalmente por distintos dinoflagelados del género *Dynophysis*.

Desde que en 1978 tuvo lugar el primer brote de gastroenteritis que se asoció al consumo de mejillones gallegos contaminados con toxinas lipofílicas, este grupo tóxico es responsable de la mayoría de los cierres de las zonas de

producción de mejillón en Galicia<sup>2</sup>. Generalmente cada año se registran dos episodios DSP, uno en primavera (de corta duración que no afecta a todas las áreas de producción) y otro que comienza a finales del verano o a principios del otoño (más generalizado y mucho más intenso).

La mayor parte de las vedas de mejillón en Galicia se asocian a proliferaciones de la especie *Dinophysis acuminata*, que causa cierres que en algunas zonas se prolongan hasta 10 meses o más.

Junto con *D. acuminata*, *D. acuta* también produce proliferaciones que desembocan en la prohibición de la extracción de los mejillones de batea por toxicidad DSP, aunque sus episodios tienen una mayor localización temporal en otoño y son menos recurrentes.

Además, en las rías se detectan otras especies del mismo género (*D. caudata*, *D. rotundata*, *D. tripos*...) con capacidad para producir toxinas lipofílicas, pero cuya incidencia sobre el sector es menor.

En cuanto a la toxicidad PSP<sup>1</sup>, desde que en 1976 se produjeron los primeros casos de esta intoxicación ligados al consumo de mejillones gallegos, las toxinas paralizantes han originado vedas intermitentes de las áreas de producción.

En Galicia, las principales especies algales productoras de estas toxinas son: *Gymnodinium catenatum* y *Alexandrium minimum*<sup>1</sup>. La segunda tiene una incidencia relativamente baja, debido tanto a la reducida extensión geográfica de las áreas que afecta (ría de Ares-Betanzos e interior de la ensenada de Baiona), como a que sus cierres se superponen con los ocasionados por toxinas lipofílicas.

---

<sup>2</sup> Arebalo, F.; Salgado, C.; Bermúdez de la Puente, M. y Correa, J (2003). Control de biotoxinas en las áreas de producción de moluscos en Galicia. Seguimiento durante los años 1999-2000. En: Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana (ed.), **Actas de la VII Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas**, 107-121.

Reguera, B. (2003). **Biología, autoecología y toxicología de las principales especies del género *Dinophysis* asociadas a episodios de Intoxicación Diarreogénica por Bivalvos (DSP)**. Tesis doctoral, Universidad de Barcelona.

Moroño, A.; Pazos, Y.; Doval, M.D. y Maneiro, J. (2005). Floraciones algales nocivas y condiciones oceanográficas en las rías gallegas durante los años 2001 y 2002. **Actas de la VIII Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas**. 3 – 5 noviembre 2003. La Laguna (Tenerife).

Pazos, Y. y Moroño, A. (2008). Microplancton tóxico y nocivo en las Rías Gallegas en los años 2003 a 2006. En: J. Gilabert (ed.) **Avances y tendencias en fitoplancton tóxico y biotoxinas: Actas de la IX Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas**, Cartagena 7-10 de mayo de 2007, 13-28.

Correa, J.; Vidal, A.; Goicochea, M.; Salgado, C. y Arevalo, F. (2008). Evolución de los episodios tóxicos en las zonas de producción de moluscos en la costa gallega entre los años 2003 a 2006. En: J. Gilabert (ed.) **Avances y tendencias en fitoplancton tóxico y biotoxinas: Actas de la IX Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas**, Cartagena 7-10 de mayo de 2007, 187-198.

*G. catenatum* no desarrolla episodios tóxicos todos los años, pero cuando lo hace provoca cierres generalizados de las zonas de producción.

Por último diversas diatomeas del género *Pseudonitzschia* se asocian con cierres de las zonas de producción por presencia de biotoxinas ASP.

Desde que en 1994 tuvo lugar el primer cierre por toxicidad amnésica en la costa gallega, sus episodios tienen lugar normalmente durante la primavera y el final del verano; y se desarrollan en un corto período de tiempo. Los mejillones muestran niveles de toxicidad por encima de los límites legales al poco tiempo de detectarse este tipo de proliferaciones, pero a su vez se desintoxican en un período de tiempo relativamente breve.

## 2. ALCANCE Y OBJETIVO DEL ESTUDIO.

En el presente informe analizaremos, en los apartados 4 y 5 los principales factores que modulan el impacto que las proliferaciones algales nocivas-PAN tienen sobre el sector productor de mejillón en Galicia. Estudiaremos además en el apartado 6 la intensidad con la cual se han desarrollado en las rías gallegas las "mareas rojas" en el período comprendido entre los años 2000 y 2007, intentando de valorar su incidencia sobre la producción de mejillón gallega. Y finalmente definiremos la casuística de la afección de las vedas.

### POLÍGONOS ESTUDIADOS.

La producción e incidencia de biotoxinas se analiza en los polígonos de cultivo de mejillón recogidos en la tabla 2 que representan prácticamente el cien por cien de los polígonos con bateas de cultivo de mejillón en Galicia, sumando un total de 3.406 bateas.

**Tabla 2.-** Polígonos de mejillón estudiados y número total de bateas de mejillón según datos de la Xunta de Galicia.

<i>RÍA</i>	<i>POLÍGONO</i>	<i>Nº BATEAS</i>
<i>ARES-BETANZOS</i>	SADA A, SADA B	114
<i>MUROS-NOIA</i>	NOIA A, MUROS A, MUROS B	127
<i>AROUSA</i>	RIBEIRA B, RIBEIRA C, POBRA A, POBRA B, POBRA C, POBRA D, POBRA E, POBRA G, POBRA H, VILAGARCÍA A, VILAGARCÍA B, CAMBADOS A1, CAMBADOS A2, CAMBADOS B, CAMBADOS C1, CAMBADOS C2, CAMBADOS D, O GROVE A, O GROVE C1, O GROVE C2, O GROVE C3, O GROVE C4	2.320
<i>PONTEVEDRA</i>	CANGAS A, CANGAS B, BUEU A1, BUEU A2, BUEU B, PORTONOVO A, PORTONOVO B, PORTONOVO C	347
<i>VIGO</i>	CANGAS C, CANGAS D, CANGAS E, CANGAS F, CANGAS G, CANGAS H, REDONDELA A, REDONDELA B-G, REDONDELA C-F, REDONDELA D, REDONDELA E, VIGO A	498

## CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.

En lo que se refiere a los cierres por toxinas, las estadísticas, gráficas y comentarios, son de exclusiva elaboración propia, fundamentada en la información que diariamente suministra el Instituto Tecnológico do Mar-INTECMAR respecto a los cierres y aperturas de las áreas de producción.

En lo relativo al cultivo empleamos solamente los datos que figuran en las Memorias Anuales de una única Organización de productores de mejillón de Galicia, ya que las Memorias Anuales disponibles del resto de las Organizaciones de la Producción no cubren por completo el período de análisis.

Asimismo, empleamos los datos disponibles de producción total anual y mensual de la Consellería de Pesca y Asuntos Marítimos, que representan el 100% de las bateas de mejillón fondeadas en los polígonos analizados.

Las organizaciones separan la producción de mejillón en dos formatos generales de producto: fresco y fábrica según destino del mismo. El mejillón que se destina a las empresas depuradoras y a los centros de expedición, se comercializa vivo y lo denominaremos fresco, mientras que el mejillón que tiene como destino las empresas de procesados y las conserveras lo denominaremos mejillón de fábrica.

De las 3.406 bateas de cultivo de mejillón que existen en los polígonos estudiados se tomaron como muestra las bateas pertenecientes a una única Organización. Ello supone más del 50% del total de bateas entre 2000 y 2005, y por encima del 30% en 2006 y 2007 (Tabla 3).

**Tabla 3.-** Para el período 2000-2007, unidades de producción de la Organización de la Producción analizada, en valor absoluto y relativo.

AÑO	BATEAS	%
2000	1.821	53
2001	1.842	54
2002	1.836	54
2003	1.828	54
2004	1.772	52
2005	1.721	51
2006	1.095	32
2007	1.068	31

Detallado por rías, la muestra incluye por término medio el 66% de las bateas de la ría de Ares-Betanzos, el 89% de las de Muros-Noia, el 60% de las de Arousa, o 29% de las de Pontevedra y el 22% de las de Vigo.

## **LIMITACIONES.**

La dificultad de obtener datos para clasificar según la necesidad de uso, nos llevo a obtener la muestra a partir de la información de las Memorias Anuales disponibles de las Organizaciones de Mejilloneros. Desde el punto de vista estadístico, la muestra carece, pues, de fiabilidad en su extracción.

La primera pega que se le puede poner a la muestra es que las Organizaciones de Mejilloneros tienen una determinada implantación geográfica, con mayor presencia o ausencia en determinadas zonas. Esto podría llevar a que la presencia de las toxinas fuera determinante en zonas en las que la representación de la muestra fuera menor, con lo que estaríamos limitando la validez del trabajo.

Significar además que la información de las memorias anuales representa -en volumen y en valor- las cifras de mejillón comercializado, no del mejillón cultivado, pudiéndose dar la circunstancia de que la zona de mayor volumen (o valor) de cultivo no lo llegue a comercializar, y por lo tanto haya una pérdida de información cualitativa y cuantitativa de suma trascendencia.

Esto nos llevan también a evidenciar que los volúmenes (y valores) de la muestra reflejan en si mismo el impacto de las vedas administrativas que influyen sobre la comercialización. Recogen también el impacto de los temporales de finales de año (especialmente en el período 2000/2001)<sup>3</sup> y del hundimiento del Prestige en el año 2002.

Por otra parte, las cifras de mejillón comercializado pueden estar afectadas colateralmente por el efecto de las tácticas de venta relacionadas con la afectación de la toxina (ya antes o después de los episodios de veda, y tanto en volumen como en valor) aplicadas por bateas, zonas, organizaciones, etc. en

---

<sup>3</sup> Anuarios climatológicos de Galicia. (2000-2007). Consellería de Medio Ambiente, Centro de Información e Tecnoloxía Ambiental. <http://www.meteogalicia.es/>.

L. Naranjo, J.J. Taboada, A. Lage, S. Salsón, P. Montero, J.A. Souto e V. Pérez-Muñuzuri (2001). Estudio de las anómalas condiciones meteorológicas sobre Galicia durante el otoño de los años 2000 y 2001. Revista Real Academia Galega de Ciencias. **20**, 113-133.

momentos puntuales, pudiéndose dar múltiples casos de actuación y de alteración de las ventas registradas en valor y en volumen.

Las políticas sociales aplicadas por las organizaciones llevan a la modificación de las relaciones asociativas generando la movilidad de los asociados, con lo cual la muestra es un número variable en cada uno de los años analizados.

Por último significar que de los volúmenes y de las facturaciones obtenidas de la muestra, se extraen tablas y gráficos con valores relativos, porcentajes, índices, coeficientes, etc., dándolos por válidos como representativos del sector.



### **3. NIVEL DE IMPACTO: INDIVIDUAL-COLECTIVO.**

Debemos tener presente que si bien los cierres administrativos ocasionados por las proliferaciones algales nocivas que se repiten todos los años en las costas gallegas perjudican siempre a los productores individuales directamente afectados, y solo cuando coinciden determinadas circunstancias pueden llegar a afectar al conjunto del sector miticultor impactando incluso sobre los siguientes niveles del cluster.

Se puede por tanto diferenciar dos niveles o grados de afectación: individual y colectivo (sector-cluster).

#### Impacto individual:

El proceso de cultivo del mejillón en batea consta básicamente de cuatro etapas: obtención de semilla, encordado, desdoble y cosecha. La semilla o mejilla proviene de las cuerdas colectoras que los productores pueden colgar de sus bateas entre los meses de abril y septiembre, o de los bancos del litoral, a los que los productores pueden acceder entre diciembre y abril. Después de su encordado, la mejilla permanece en el mar durante aproximadamente 4-6 meses, hasta que debido al considerable aumento de peso se hace necesario el desdoble de las cuerdas, esto es, la confección de nuevas cuerdas de densidad menor. Con este proceso se consigue una selección previa para homogeneizar el producto de cara al mercado. Después de aproximadamente un año en el mar, el mejillón de desdoble alcanza la talla comercial por lo que ya está listo para su cosechado.

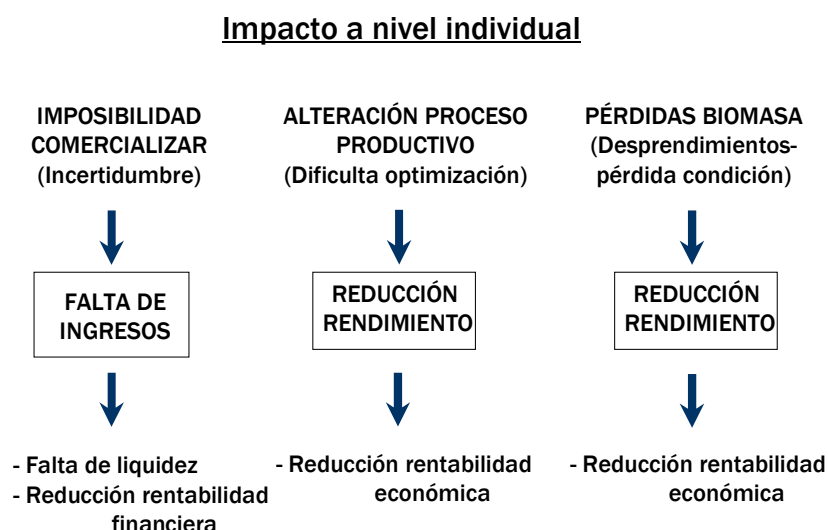
Así pues, el proceso de cultivo del mejillón en Galicia tiene unos ritmos que vienen marcados por los ciclos naturales de reproducción y desarrollo de la especie cultivada y por la disponibilidad de espacio dentro de la batea.

El impacto inmediato que las vedas provocan sobre cada uno de los productores afectados es la imposibilidad de comercializar su producto, generando así mismo incertidumbre sobre el momento en el cual podrán volver a vender de nuevo su marisco. Al no poder liberar la batea de mejillón comercializable, el proceso productivo se paraliza, no se puede encordar mejilla, ni se puede desdoblar las cuerdas de mejillón, ya que existe un número máximo legal de cuerdas por batea, lo que dificulta la organización y optimización del proceso productivo en cada una de las bateas cerradas.

Además de estos efectos inmediatos, en los casos más graves se pueden producir importantes pérdidas de biomasa debidas a la disminución de la condición del mejillón o por desprendimientos de este de las cuerdas si el producto está muy maduro, si la densidad de carga por cuerda es elevada o bien si los períodos de cierre coinciden en la época de los temporales.

Como se resume en la figura 1, para el productor individual el efecto directo de encontrarse en una situación de prohibición de extracción de su producción significa no poder vender, con lo que se encuentra imposibilitado para obtener ingresos, lo que deriva en la no disposición de liquidez y en la reducción de la rentabilidad financiera de su empresa.

Por otro lado, la distorsión del ciclo productivo (que en los casos más graves puede acompañarse de pérdidas más o menos importantes de la biomasa de cultivo) supone siempre la reducción del rendimiento productivo de las explotaciones y por tanto, la disminución de la rentabilidad económica de las mismas.



**Figura 1.-** Impactos de las vedas sobre los productores individuales de mejillón.

**Impacto colectivo:**

Las cuestiones descritas anteriormente, se refieren básicamente a los impactos negativos que las proliferaciones algales nocivas tienen sobre los productores a nivel individual y pueden no llegar a repercutir en el global del sector mitilicultor ni en el resto de los agentes del cluster.

Solamente en determinadas circunstancias y cuando las vedas afectan a un conjunto suficiente de unidades de producción, el impacto se generaliza entre el global del sector productor.

Por ello, en un análisis más profundo y a nivel sector-cluster debemos tener presente además varios aspectos que globalizan el impacto. La distribución geográfica y temporal de los cierres, la distribución temporal de la producción total y por formatos de producto en primera venta, las características diferenciales de la comercialización de los distintos formatos de producto... son variables que nos ayudarán a comprender, a lo largo de este informe, cómo y cuando los episodios tóxicos pueden afectar a los distintos agentes del cluster del mejillón y en que medida estos factores también agudizan los impactos sobre los productores individuales.

## **4. PRODUCCIÓN: VOLUMEN-PRECIO-VALOR-CONSUMO.**

### **INTRODUCCIÓN.**

A continuación se presentan los datos más relevantes sobre la producción de la muestra seleccionada (volumen producido, valor facturado, producción mensual por formatos...) entre los años 2000 y 2007.

Cabe hacer una mención respecto de la producción (volumen, valor, etc.), ya que tales cuantías, a falta de información más específica, habrá que entenderlas referidas a primera venta, como producción resultante del cultivo, también como producción comercializada, igualando los conceptos de capacidad de producción, producción, e incluso oferta.

Así entendemos la igualdad entre cultivo y producción, si bien entre estos conceptos y producción comercializada podría haber substancial diferencia, ya que se podría llegar a producir mayor cantidad que la que se comercializa.

Igualmente existe potencial diferencia entre producción comercializada y oferta, pues esta última es el volumen puesto a disposición en el mercado, y dependiendo de los usos comerciales puede no coincidir con la registrada como producción comercializada.

Por otra parte, la producción se puede igualar a la capacidad de producción, dado que la tendencia a la optimización de los procesos productivos hace que a efectos de análisis se iguale lo que se produce con aquello que en las mejores circunstancias se podría llegar a producir con las condiciones estructurales existentes.

## PRODUCCIÓN TOTAL.

Debemos recordar que, mientras que los datos de producción total se refieren a un número constante de unidades de producción, los datos de la muestra, esto es, los datos de producción vendida por la Organización Mejillonera analizada se refieren a un número de bateas que no ha permanecido constante a lo largo del período aquí recogido, con una importante caída en unidades de producción en los años 2006 y 2007 (Tabla 3).

Igualmente debemos tener presente que en estos años sucedieron una serie de hechos que marcaron la producción comercializada de mejillón de forma más o menos pronunciada.

Por un lado, los fuertes temporales que azotaron las costas gallegas, principalmente a finales del año 2000 y principios del 2001; por otro el accidente del petrolero Prestige en noviembre de 2002, y además los reiterados afloramientos de microalgas productoras de toxinas, alguno de ellos extremadamente significativo por su intensidad.

Todo ello deberá ser tratado con la perspectiva necesaria para que el período temporal estudiado pueda ser representativo de un período que se pueda considerar medio o normal.

En los primeros años del siglo actual la muestra produjo-vendió entre los casi 57 millones de kilos en 2007 hasta los más de 115 millones en 2004 (Tabla 4). Oscilando la producción total en Galicia, según datos de la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos, entre los más de 205 millones de kilos en 2005 y los casi 300 millones en 2006.

**Tabla 4.-** Evolución de la producción (volumen) total de mejillón en Galicia (fuente Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos) y en la Organización Mejillonera estudiada.

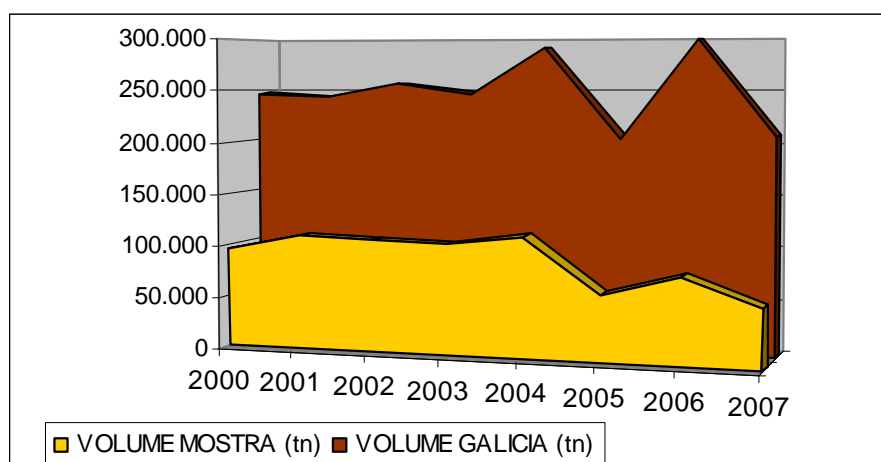
AÑO	VOLUMEN TOTAL ORGANIZACIÓN (toneladas)	VOLUMEN TOTAL GALICIA (toneladas)
2000	95.495	246.128
2001	111.197	242.829
2002	108.204	257.143
2003	106.245	246.956
2004	115.304	292.292
2005	63.581	205.227
2006	82.038	298.871
2007	56.874	208.186

La muestra, en volumen de producción anual, representó aproximadamente el 40% del total de mejillón producido en Galicia en los años 2000 a 2004. Pero, entre 2005 y 2007, la organización redujo su peso específico, al producir cerca del 30% del volumen total de mejillón gallego. Ello podemos achacarlo en 2006 y 2007 a la importante pérdida de unidades de producción que registró la organización en estos años (ver Tabla 3).

En 2005 la caída de producción de la organización es consecuencia directa de las "mareas rojas" como detallaremos más adelante.

Pese a que el comportamiento anual de la producción total en la muestra y en Galicia no es paralelo, destaca que ambas marcan los dos valores mínimos de producción en los mismos años, 2005 y 2007 (Gráfico 1).

En cuanto a los máximos de producción total, el sector mitilícola gallego registró máximos en 2004 y 2006, con un volumen próximo a los 300 millones de kilos. Por su parte la organización alcanzó igualmente un máximo de producción en 2004, con 115 millones de kilos, pero no llegó a dicho valor en 2006, consecuencia de la reducción en su capacidad productiva.



**Gráfico 1.-** Comportamiento anual de la producción total de mejillón en la muestra y en el global de Galicia.

Un somero y superficial análisis inicial de los volúmenes de producción total de la organización nos puede orientar sobre los motivos de mayor envergadura que ocasionan la variabilidad de las cifras expuestas.

En los primeros 5 años la producción de la muestra se mantuvo siempre por encima de las 100.000 toneladas excepto en 2000 debido a las pérdidas

provocadas por las malas condiciones meteorológicas, en concreto por los temporales de finales de año, meses en los que se concentra una parte muy importante de las ventas de mejillón, y que lógicamente repercutieron además en las ventas de inicio del año 2001, aunque su efecto fue diluido con la progresividad del resto de las ventas del año.

Dos mil uno, además de lo ya expresado arriba, fue uno de los años menos castigado por la proliferación de microalgas productoras de biotoxinas (como luego se verá) y ello se traduce en un crecimiento de la producción total de un 17% respecto del año anterior.

En 2002 la producción de la muestra dibuja una reducción de casi 12.000 toneladas, a causa de la disminución de la demanda de mejillón en los últimos meses del año propiciada por la pérdida de confianza del consumidor en el producto tras el vertido del fuel transportado por el petrolero Prestige, cuyos efectos son amplificados por la circunstancia de acumulación de stocks de mejillón en las bateas, originada por la incidencia de las biotoxinas que ocasionó el cierre generalizado de los polígonos mejilloneros a finales de este año.

En 2003, y coincidiendo con uno de los peores años de presencia de fitoplancton tóxico en las rías -como luego se detallará-, la organización produjo unas 6.000 toneladas más que el año anterior, pero unas 5.500 toneladas menos que en 2001.

Ya en 2004, pese a sufrir importantes episodios de veda, la organización suma el máximo volumen de producción del período estudiado. Ello nos indica que solo analizando datos anuales totales, no parece que en ese año las "mareas rojas" hayan causado un efecto negativo significativo sobre la producción de la organización.

Dos mil cinco registró la mayor caída de producción total de mejillón -tanto en la organización como en la producción total gallega-. Este año fue con diferencia el peor de "mareas rojas", tanto por la generalización como por la intensidad de las proliferaciones de fitoplancton tóxico en las rías, como detallaremos más adelante.

En 2006, resultado de la menor incidencia del fitoplancton tóxico, la producción total gallega alcanzó el máximo del período. La organización llegó solo a las 82.000 toneladas, muy por debajo de los más 115 millones de kilos producidos en 2004. La causa es la pérdida de unidades de producción registrada por la organización ese año (1.095 bateas en 2006 frente a las cerca de 1.800 bateas inscritas en la organización entre 2000 y 2005).

Por último, en 2007 la producción de la organización vuelve a desplomarse hasta situarse en unas 57.000 toneladas -mínimo del período- y eso pese a que este es el año que sumó el menor número de cierres de polígonos por biotoxinas marinas. Esta importante caída en la producción también se observó en el total de la producción gallega y sus posibles causas las discutiremos más adelante.

De esta primera aproximación, se podría concluir que en general hay una relación irrelevante entre las vedas y la producción comercializada –de la organización-. No obstante los cierres podrían estar afectando en mayor medida a los polígonos ocupados mayoritariamente por productores no incluidos dentro de la organización estudiada, con lo cual, el posible efecto negativo de los cierres sobre la producción no estaría plasmándose en los datos de producción de la muestra que presentamos. No obstante, el análisis de la producción total gallega (datos de la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos) tampoco muestra una relación clara entre vedas y producción total comercializada.

En todo caso, aunque realmente no se produjera un efecto negativo sobre la producción total, en cuanto a facturación no podemos afirmar lo mismo hasta segregar la producción según categorías de producto, dado el distinto precio que marcan las organizaciones mejilloneras para la producción de mejillón fresco *versus* fábrica.

En cuanto a las diferencias en el comportamiento de la producción gallega y de la muestra, las podemos achacar a que los factores anteriormente descritos afectaron en distinto grado a la organización analizada y al resto del sector del cual no disponemos de datos directos y con la suficiente desagregación para profundizar en su estudio.



## PRECIOS SEGÚN FORMATO DE PRODUCTO.

Para el mejillón gallego, tanto su formato como su precio en primera venta, dependen del destino del producto.

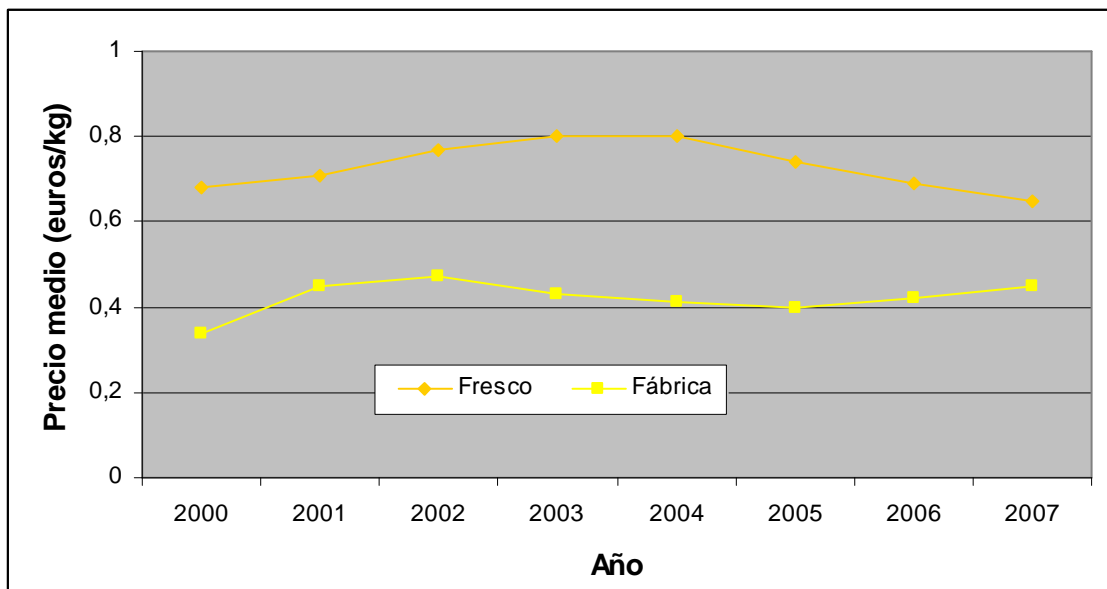
El mejillón destinado para ser procesado en cocederos o para su transformación en la industria conservera se expide a granel, sin selección previa.

Por su parte, el mejillón destinado a la depuración para su comercialización en vivo, es seleccionado y embolsado, lo que repercute en un precio superior.

Así, de forma general el sector mitilicultor fija un precio en primera venta mayor para el mejillón fresco, y por ello anualmente el sector registra un precio medio mayor para este producto, tal y como se puede observar en el gráfico 2.

Analizando en detalle los datos de la organización, entre 2000 e 2007, el mejillón fresco alcanzó un precio medio significativamente mayor que el mejillón destinado a transformación y procesado.

El precio medio del kilo de mejillón fresco –que casi dobló el del mejillón de transformación- osciló entre 0,68 en 2000 y 0,80 euros en 2003 y 2004; mientras que el precio medio del kilo de mejillón de fábrica se movió entre 0,34 euros en 2000 y 0,47 en 2002.



**Gráfico 2.-** Evolución anual del precio medio obtenido por la organización estudiada según formato de producto.

Además de lo comentado anteriormente, para el mejillón de fábrica el precio en primera venta depende del tamaño (nº de piezas que entran en un kilo) y del rendimiento (porcentaje de vianda respecto al peso total).

En el precio de este formato de producto tiene mucha importancia el momento de su recogida que vendrá marcado por su rendimiento. Por lo que cualquier incidencia que impida la cosecha de mejillón en su momento óptimo repercutirá negativamente sobre la rentabilidad anual obtenida para la producción destinada a fábrica.

Por su parte, el precio en primera venta para el mejillón que se comercializa en fresco depende básicamente de su tamaño o categoría (nº de piezas que entran en un kilo), estableciéndose distintas categorías a lo largo de los últimos años.

Así cualquier factor que fuerze la comercialización de mejillón fresco de menor tamaño repercutirá negativamente sobre la rentabilidad anual obtenida para la producción de fresco.

En este sentido la disminución del precio medio del mejillón fresco registrada por la organización a partir de 2004 es debida en parte a que en los últimos años la organización ha comercializado volúmenes crecientes de mejillón fresco de menor talla y por tanto de menor precio.

Como conclusión, el sector mejillonero fija un precio significativamente mayor para el mejillón fresco que para el de fábrica. Además, rendimiento y tallas, son factores que condicionan el precio medio de ambos formatos de producto, y por tanto deben ser tenidos en consideración cuando se analiza el impacto de las proliferaciones algales nocivas sobre el sector mitilicultor en Galicia.

## **VOLÚMENES SEGÚN FORMATO DE PRODUCTO.**

Visto lo anterior, pasamos a estudiar, en detalle y por separado, las oscilaciones en el volumen de producción del producto fresco y del de fábrica con los datos disponibles de la Consellería de Pesca y Asuntos Marítimos y de la organización.

Para la Organización mejillonera (Gráfico 3), los porcentajes de producción de mejillón fresco y de fábrica se han mantenido, respectivamente, en torno a 35% y rondando el 65%, todos los años excepto en 2006 y 2007, en los que se aprecia una significativa reducción de la contribución del producto fresco, que pasa a representar solo el 22% de la producción total de la organización.

Ello se debe a que un número importante de las bateas que se dieron de baja en esta organización se dedicaban mayoritariamente a la producción de mejillón destinado al mercado del fresco.

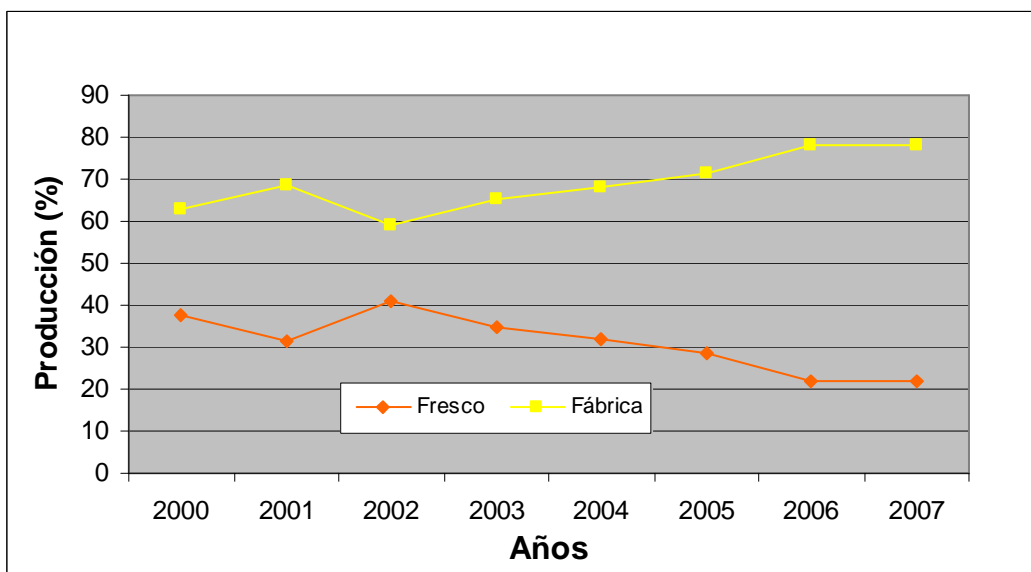
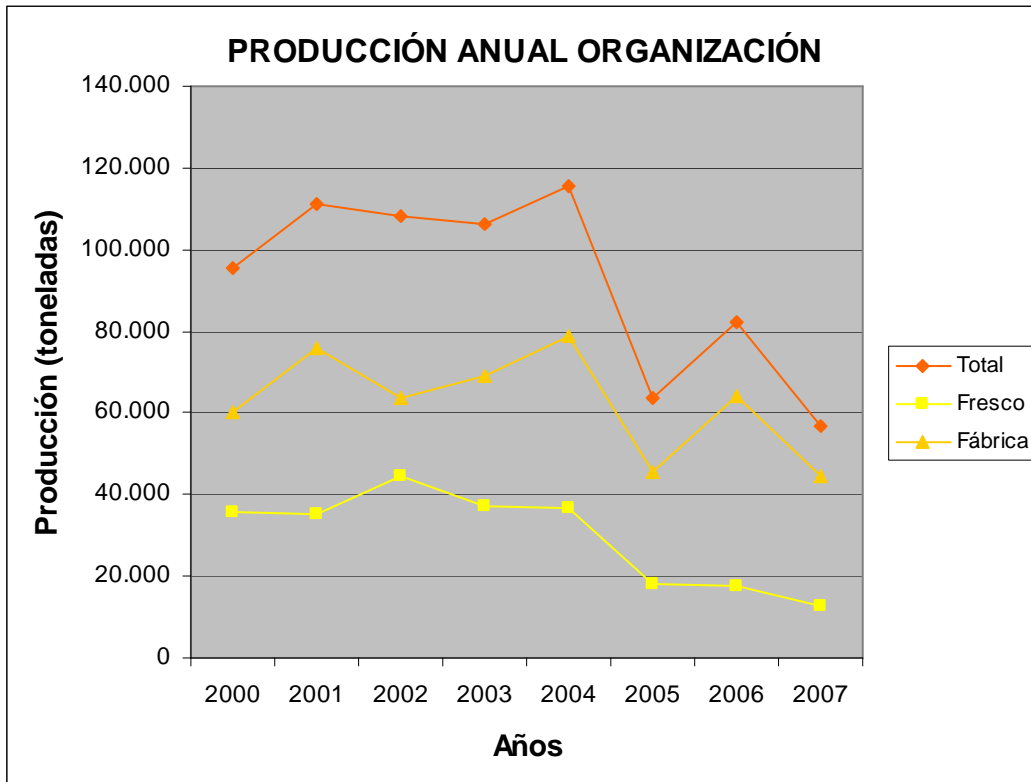
Año a año del total de la producción gallega de mejillón habitualmente un 60% se destina a su transformación y/o procesado -mejillón fábrica- y el 40% restante se comercializa fresco.

En el período 2000-2007 esta pauta se repite excepto en 2007, año en que ambas producciones prácticamente se igualan (Gráfico 4). Ello se debe a que en ese año el sector mitilicultor ha dejado de producir-comercializar unas 80.000 toneladas de mejillón fábrica.

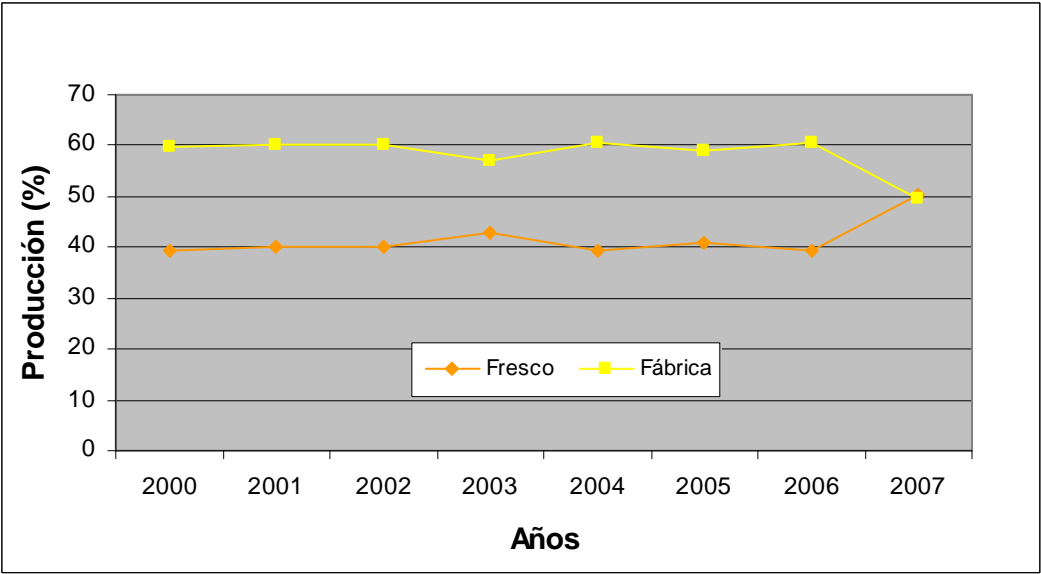
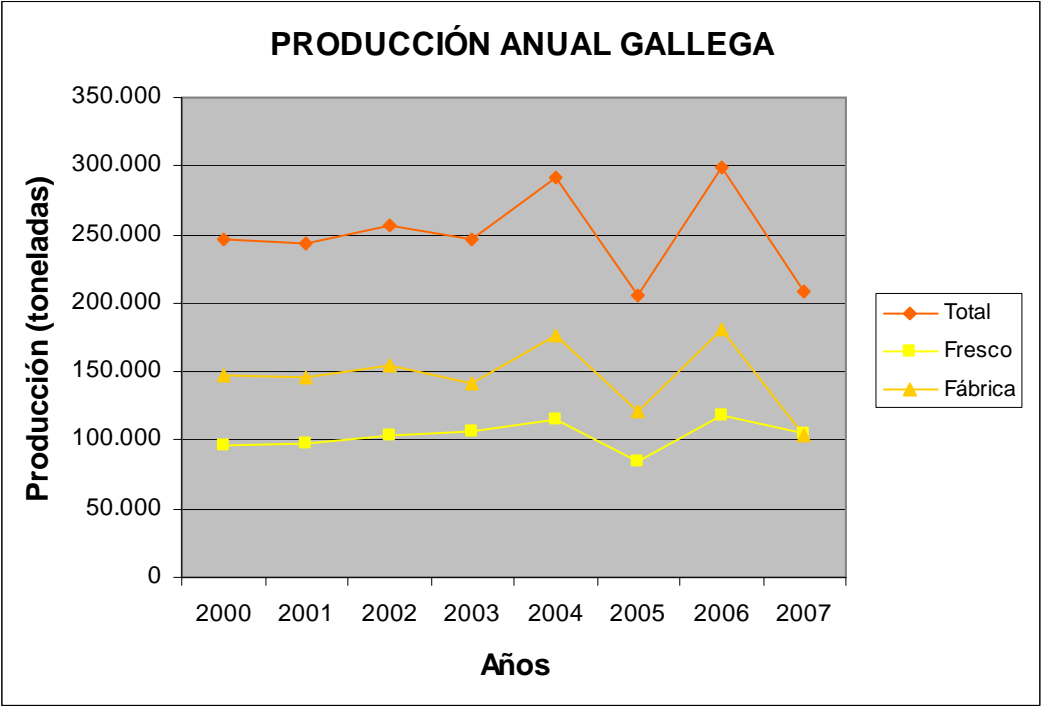
Esta caída en la producción gallega de mejillón de fábrica es consecuencia de la reducción en la demanda de mejillón gallego por parte de la industria conservera nacional.

En los primeros años de este siglo una parte significativa de la industria conservera gallega ha iniciado un intenso proceso de deslocalización que les ha llevado a abrir plantas de producción en el extranjero. Ya operativas, en 2007 la industria conservera gallega ha elaborado parte de su producción de conservas de mejillón en sus fábricas del extranjero envasando producto no gallego, lo que ha reducido significativamente su demanda de mejillón gallego.

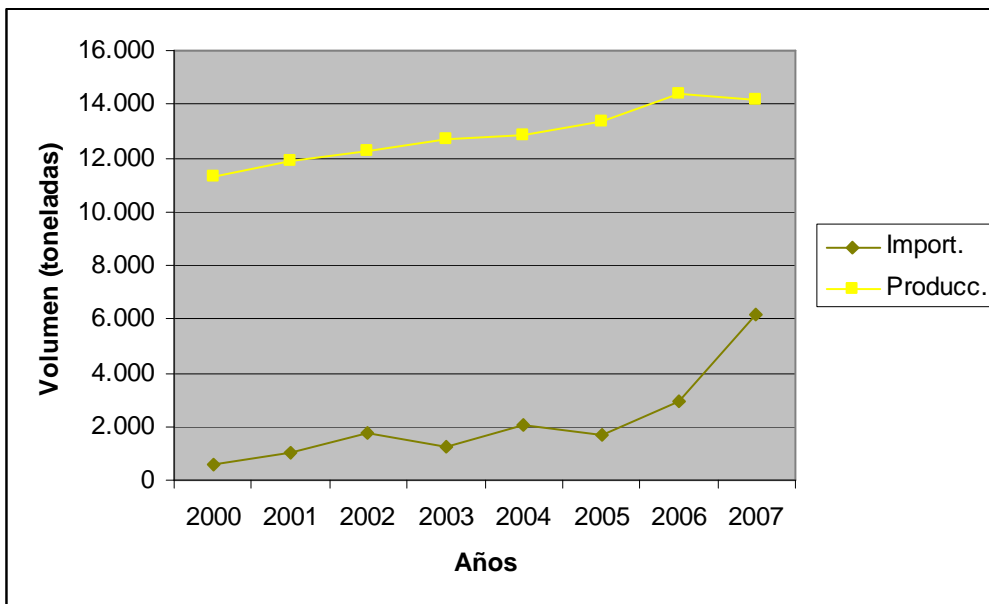
Por ello entre 2000 y 2007 mientras que la producción de las conserveras gallegas que elaboran conserva de mejillón ha aumentado un 25%, las importaciones de este producto se han multiplicado casi por 11 al pasar de las 500 toneladas en 2000 a las más de 6.100 en 2007 (Gráfico 5).



**Gráfico 3.-** Evolución de la producción anual de mejillón de la organización según formato de producto (valor absoluto y relativo) entre 2000 y 2007.



**Grafico 4.-** Evolución anual de la producción de los distintos formatos de mejillón (en valor absoluto y relativo) de la producción gallega.



**Gráfico 5.-** Evolución anual de la producción de conserva española de mejillón y de las importaciones españolas de conserva de mejillón entre 2000 y 2007.

Como conclusión general, la producción de mejillón de fábrica tiene un peso relativo considerablemente mayor que la producción de mejillón fresco (tanto en el total de Galicia como en la organización), aunque cabe esperar que en años venideros la demanda de mejillón gallego de fábrica se reduzca (como ha ocurrido en 2007) debido al proceso de internacionalización de la industria conservera gallega.

## **FACTURACIÓN SEGÚN FORMATO DE PRODUCTO.**

Como ya se comentó el precio del mejillón fresco varió constantemente a lo largo del periodo estudiado y el precio del mejillón de fábrica tampoco ha permanecido constante a lo largo de estos años, hechos que deberemos tener presentes en el análisis de la facturación.

La mitilicultura de Galicia alcanzó un volumen de facturación que osciló en el período analizado entre los cerca de 98 millones de euros -en 2000 y 2007- y los 142 millones de 2004 (Gráfico 6).

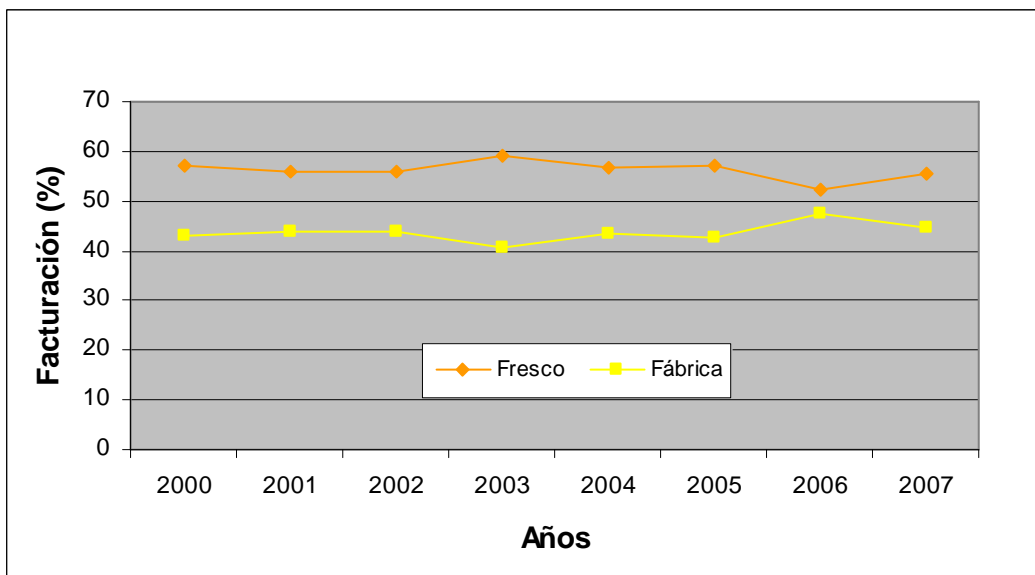
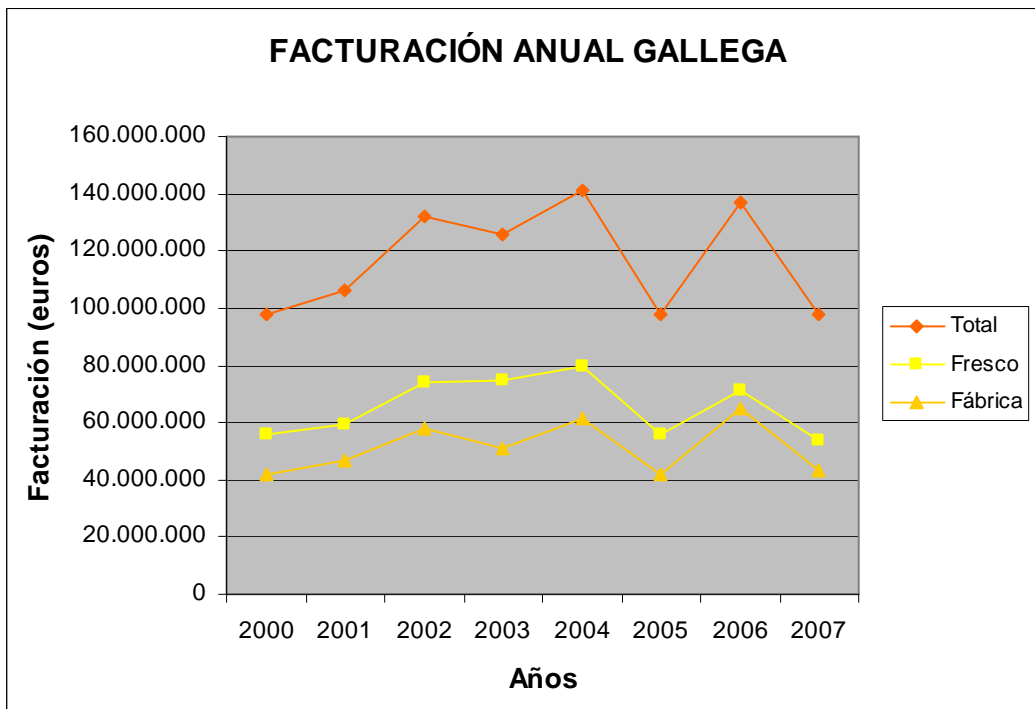
Destaca que la producción de fresco, pese a su menor volumen, es la que contribuye en mayor porcentaje a la facturación total, representando por término medio el 56% del valor.

En cuanto a la organización, su facturación total se movió entre los 28 millones de euros en 2007 y los 61 millones en 2004 (Gráfico 7); siendo generalmente el mejillón de fábrica el que tiene un mayor peso relativo tanto en producción como en valor, ya que supone alrededor del 55% del total de la facturación entre 2000 y 2005, y aproximadamente el 70% en 2006 y 2007.

Aún y con todo, también en la muestra la significación relativa del producto fresco en valor es significativamente mayor que en volumen de producción; consecuencia de la mayor cotización que alcanza este producto frente al que se obtiene por el mejillón destinado a fábrica.

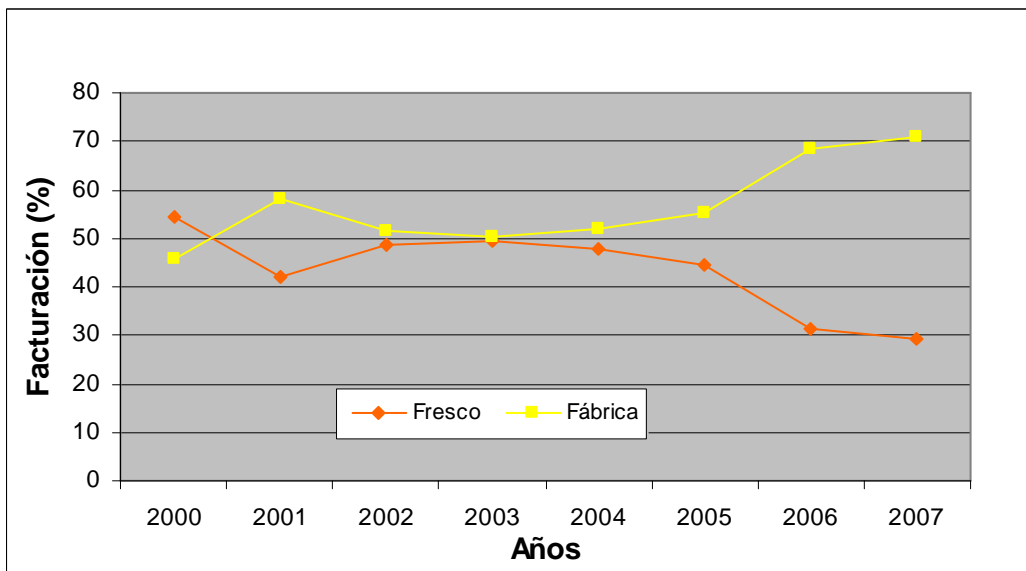
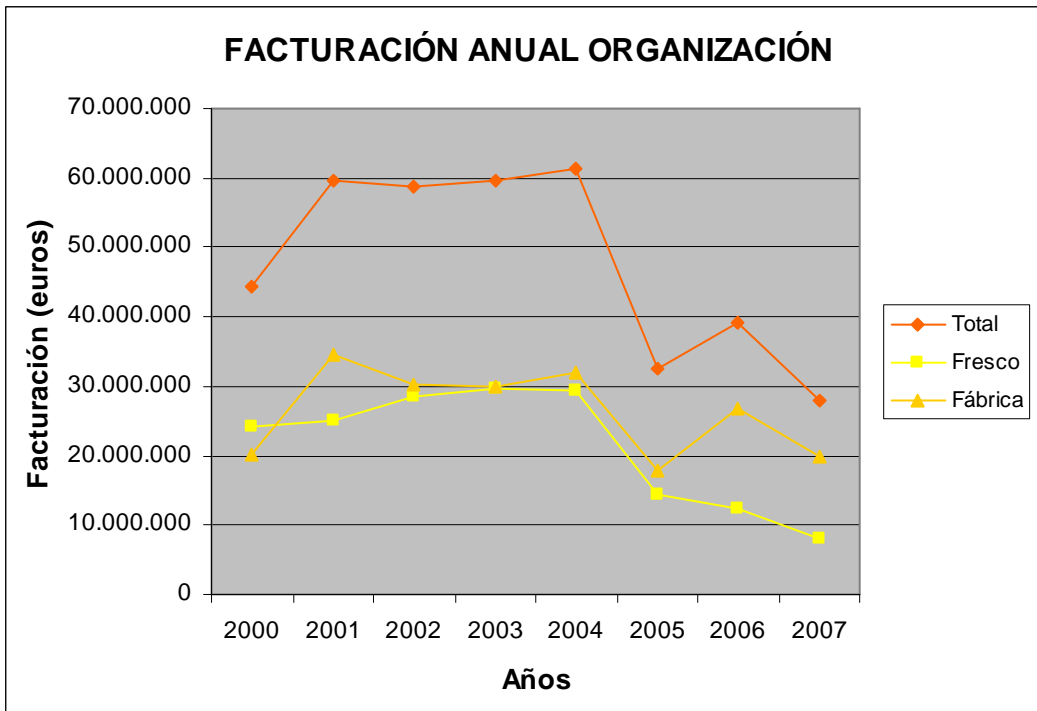
Por otro lado, al confrontar los datos de facturación con los de vedas (apartado 5) no encontramos un patrón claro que relacione reducción de facturación con incidencia de toxinas. Por lo que del análisis de la facturación anual por formato de producto no podemos extraer una conclusión clara respecto a la negativa incidencia de las vedas en el período analizado, y habrá que profundizar en el análisis de los efectos económicos negativos a través de la disgregación mensual de la producción y de los cierres de las áreas de producción ya que tanto en la comercialización de mejillón como en la presencia de microalgas tóxicas en las rías, existe una marcada estacionalidad (como veremos en apartados posteriores).

Como conclusión, cualquier disminución en la producción de mejillón fresco se verá magnificada en el análisis de la facturación, con lo cual las pérdidas de volumen de producto fresco originadas por la presencia de fitoplancton tóxico, tendrán un impacto económico mayor que las pérdidas de volumen de producto destinado a fábrica.



**Gráfico 6.-** Facturación anual del total del sector mitilicultor gallego según formato de producto (en valor absoluto y relativo) entre 2000 y 2007.





**Gráfico 7.-** Facturación anual de mejillón de la organización según formato de producto (en valor absoluto y relativo) entre 2000 y 2007.

## **DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LA PRODUCCIÓN.**

En cuanto a la temporalidad de la producción, dado que:

- en el cultivo de mejillón no se realiza ningún aporte alimenticio,
- ni se incorporan fármacos, productos zosanitarios...
- y no hay intervención humana en la modificación de las variables y condiciones ambientales,

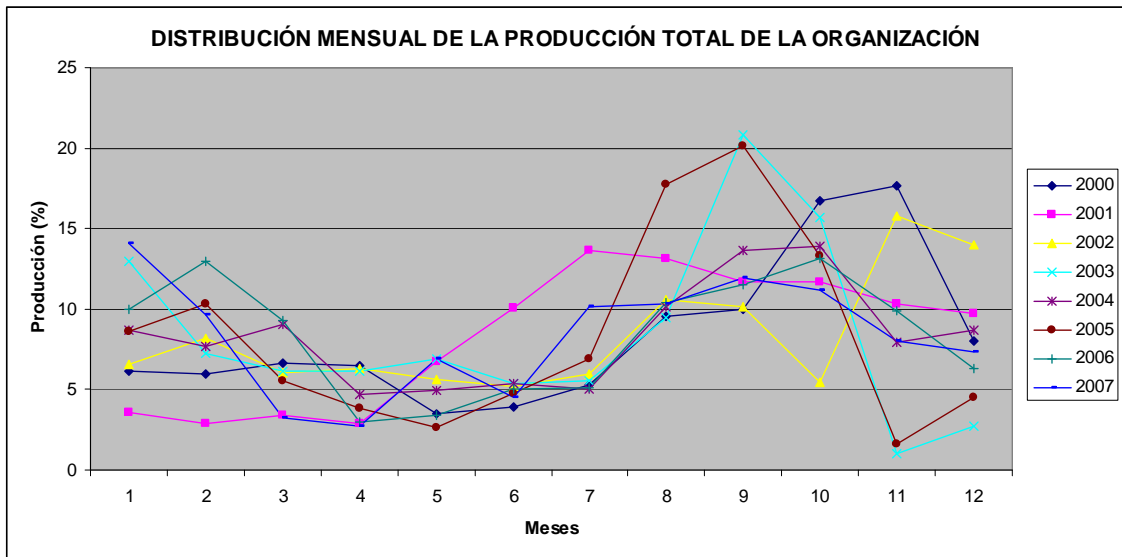
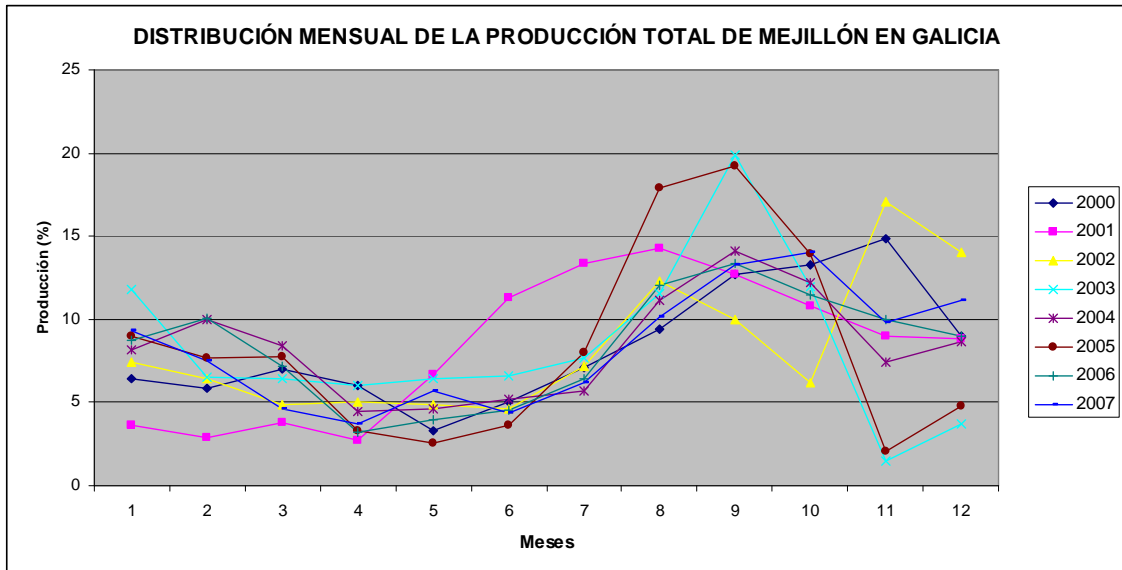
la mitilicultura es una actividad fuertemente sometida a las pautas de la naturaleza. Por ello, como cualquier otro producto de recolección, tiene sus tiempos de siembra y de recogida.

A lo largo del tiempo, esta circunstancia fue adaptando el hábito de consumo a los períodos temporales de mejor condición del producto.

La permanencia de ese hábito en la actualidad configura una demanda en primera venta estacional (y una oferta que se adapta a la demanda) que se centra mayoritariamente entre agosto-enero (si no hay factores que lo impidan), y en menor grado de febrero a julio (Gráfico 8). Esta circunstancia es igualmente observable en la demanda-consumo en los hogares (como veremos en el apartado siguiente).

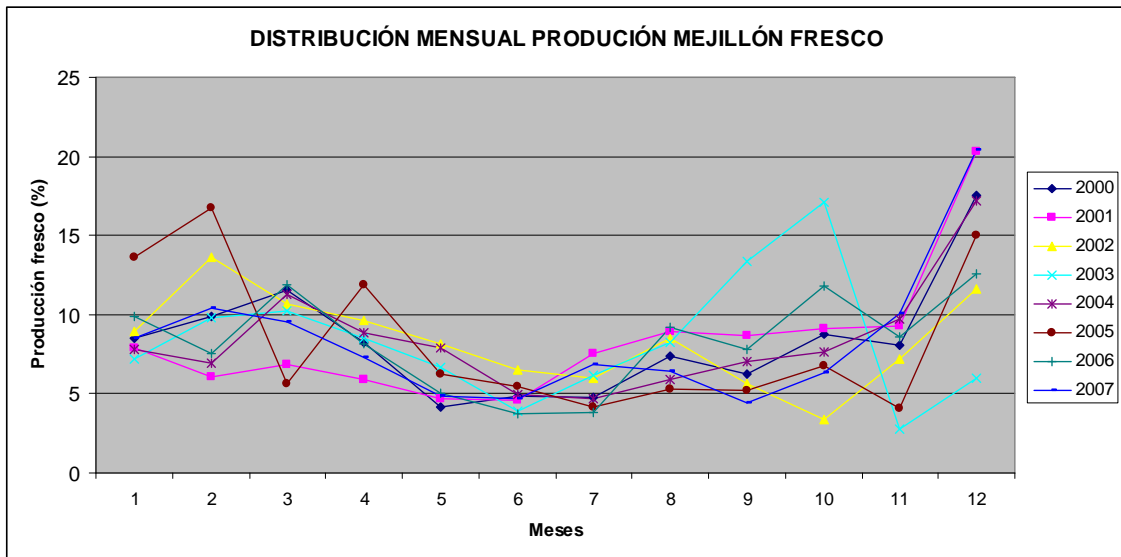
La evolución del porcentaje mensual de la producción total en Galicia y en la muestra es con alguna excepción prácticamente paralela, contrariamente a lo observado anteriormente con los valores anuales de producción total.

Al no disponer de datos de producción mensual de para el total del sector mitilicultor gallego con el detalle suficiente, para en el análisis de la distribución mensual de la producción según formato de producto utilizaremos los datos desagregados de la organización, que tomaremos como representativos del total de la producción gallega (Gráficos 9 y 10).



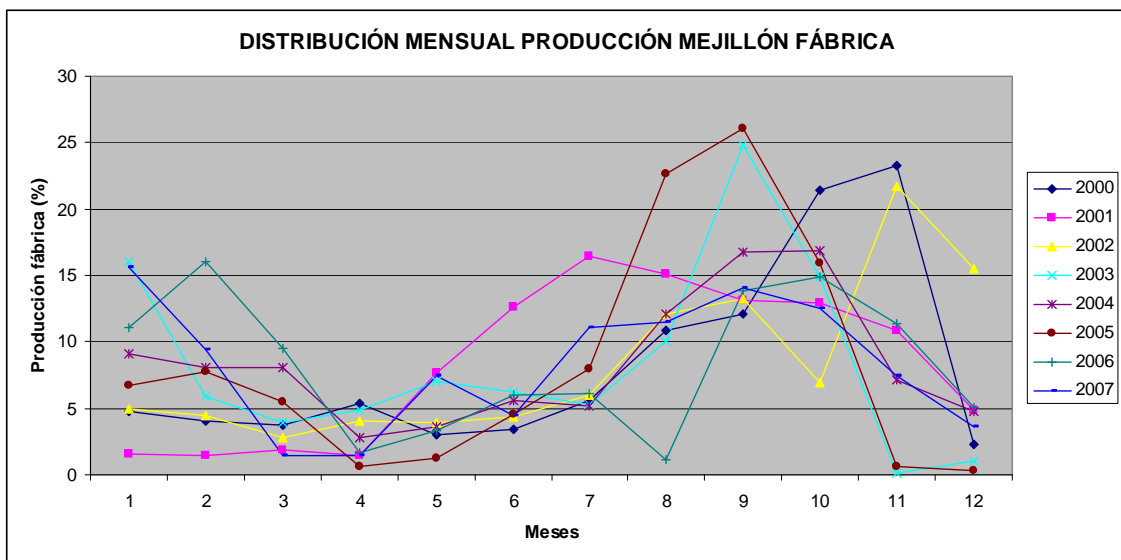
**Gráfico 8.-** Distribución mensual (en %) de la producción total de mejillón en Galicia y de la organización, en los años 2000 a 2007.

Desagregando la producción por formato de producto, la comercialización del mejillón fresco tiene un comportamiento claramente estacional, permaneciendo más o menos constante a lo largo del año y aumentando significativamente, siempre que no existan factores que lo impidan, a finales de año en diciembre, mes en el que normalmente se comercializa por encima del 15% del total de mejillón fresco.



**Gráfico 9.-** Distribución mensual de la producción de mejillón de la muestra destinado a ser comercializado en vivo, en %, para los años 2000 a 2007.

En cuanto al mejillón destinado a la transformación o al procesado (Gráfico 10), la recolección se concentra normalmente en el último semestre del año, fundamentalmente en los meses de agosto, septiembre, octubre y noviembre –campaña de la conserva-, manteniéndose en el resto del año normalmente por debajo de las 6.500 toneladas.



**Gráfico 10.-** Distribución mensual de la producción de mejillón de la muestra destinado a su procesado o transformación, en %, para los años 2000 a 2007.

Esta distribución temporal de la producción-venta se debe en gran medida a la inercia de la demanda, pero también al hecho de que el mejillón está sometido

a los ciclos de la propia naturaleza, sin manipulación de las variables que regulan tales ciclos.

Así el proceso natural de desove se enmarca entre principios de febrero hasta junio, dependiendo su inicio, intensidad y plazo, de los valores de variables exógenas.

La pérdida de masa del mejillón en este proceso reproductor es masiva, recuperándose con posterioridad dependiendo entre otros factores de la cantidad de alimento existente en el medio.

Una vez el mejillón está "en carne", la industria tiende a iniciar la demanda del producto, a finales de julio.

La comercialización del mejillón fresco desplaza el crecimiento de sus pedidos pasado agosto, mes de vacaciones, al final del cual se reincorporan las familias a sus domicilios habituales. Y la mayor intensidad de demanda se da principalmente en diciembre durante la conocida como campaña de Navidad.

Como conclusión, la época de recolección del mejillón depende, entre otros factores, de su destino. Y este condicionante estacional de la producción-venta se debe tener en cuenta cuando se analiza el impacto económico de las vedas sobre el sector mitilicultor en Galicia.

Para el conjunto de la producción, dado que la comercialización de los volúmenes más significativos de mejillón se registra en el segundo semestre del año, un cierre será menos agresivo si se da en el primer semestre del año, porque (al margen de la consideración de calidad del producto para acceder al mercado de consumo) las ventas son más reducidas ya que la demanda es menor, en consecuencia, los perjuicios causados a la comercialización serán menores. Asimismo, cuando el furor comercial está más álgido, en el segundo semestre, un cierre administrativo tendrá unas consecuencias comercialmente más perniciosas.

En el caso del mejillón fresco:

- La coincidencia temporal entre cierres y época de mayor demanda ocasionará un impacto económico que será más marcado para este formato de producto *versus* fábrica, debido a su mayor precio.
- Además para el producto fresco nos encontramos con el agravante de que su perezoso mercado debe ser atendido puntualmente o se pierde. Así en el mercado del fresco la demanda no abastecida perece, lo que implica que las empresas productoras sufren pérdidas más o menos cuantiosas por lucro cesante.

Para el mejillón de fábrica:

- En el mercado de fábrica aunque la demanda no abastecida puede ser hasta cierto punto postergada, igualmente se originan perjuicios económico-financieros en las empresas del sector productor, puesto que, en primer lugar al retrasar la cosecha se pierde rentabilidad financiera, por otro lado determinadas empresas pueden no esperar por el mejillón gallego y optar por su sustitución por materia prima originaria de otros países; o bien por último, puede ocurrir que el retraso de la cosecha origine una disminución en el precio del mejillón provocado por una reducción significativa de su rendimiento.

## **CONSUMO EN LOS HOGARES: FORMATOS DE PRODUCTO, EVOLUCIÓN MENSUAL Y ANUAL.**

En el presente apartado analizaremos el comportamiento del consumo nacional de mejillón en los hogares españoles, haciendo especial incapié en su evolución mensual.

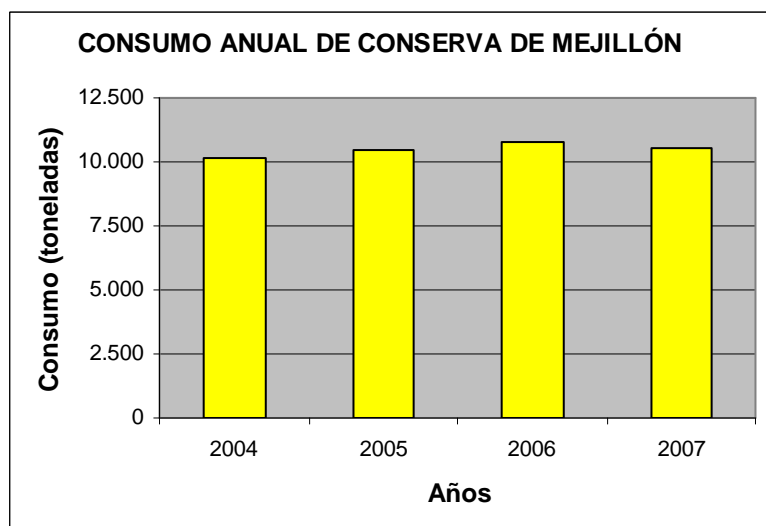
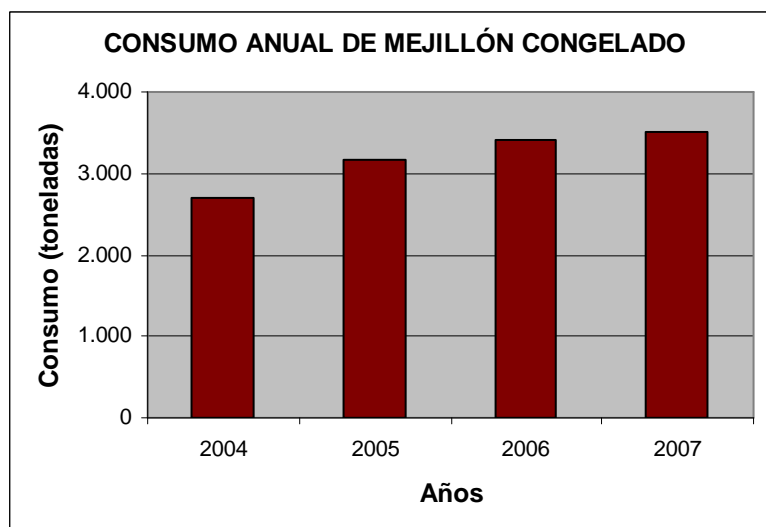
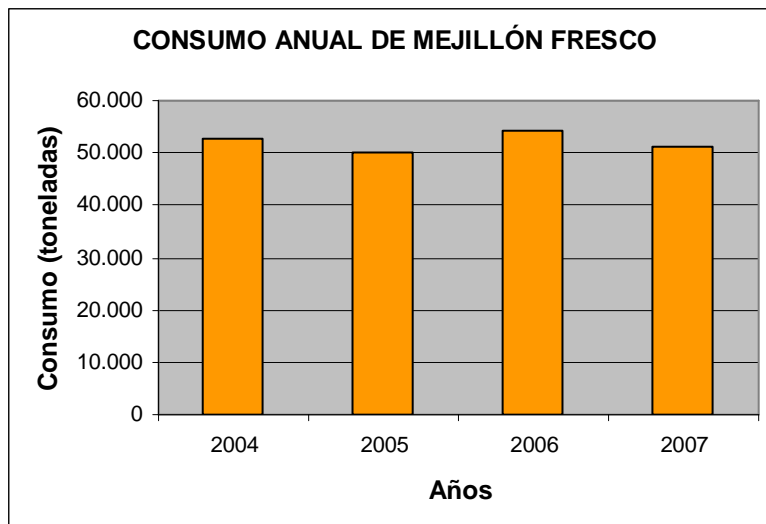
Los datos de consumo que presentamos pertenecen a la base de datos de consumo en hogares del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Medio Marino; y cubren el período 2004 a 2007.

El Ministerio subdivide el consumo de mejillón en tres formatos básicos de producto: mejillón fresco, mejillón congelado y conserva de mejillón.

El primero se corresponde con el formato de producto en primera venta denominado por los miticultores con el mismo nombre. La suma de mejillón congelado y conserva de mejillón se corresponde con lo que los productores denominan mejillón de fábrica; y para estos formatos de consumo sus valores se refieren al peso de la vianda de mejillón consumida y no al peso total de mejillón consumido.

A continuación presentamos la evolución anual del consumo de mejillón en sus tres formatos de producto (Gráfico 11). En general los valores de consumo en los hogares españoles para el mejillón fresco y la conserva de mejillón se han mostrado bastante constantes, con un valor de consumo medio anual para el producto fresco de 52.000 toneladas y para la conserva de mejillón de 10.500 toneladas. El consumo de mejillón congelado no ha parado de incrementarse en el período 2004-2007 pasando de las casi 2.700 toneladas a las más de 3.500.

Destacar que en 2005, año de mayor incidencia de fitoplancton tóxico en las rías gallegas, el consumo de mejillón fresco cayó hasta registrar su valor mínimo con 50.000 toneladas



**Grafico 11.-** Evolución anual del consumo en los hogares españoles de mejillón en sus tres formatos de producto, en el período 2004 a 2007.



A continuación pasamos a analizar si el consumo-demanda final de mejillón en los tres formatos –fresco, congelado y conserva- es estacional y se adapta a los períodos temporales de mejor condición del mejillón, como ocurre con la producción-demanda en primera venta de los distintos tipos de mejillón –fresco, fábrica-, o bien si el consumo en los hogares no está condicionado por los ciclos naturales del producto.

La evolución mensual del consumo nacional de mejillón fresco comienza en enero con 5.000 toneladas; en los meses siguientes, coincidiendo con el inicio de la época de reproducción del mejillón de batea, el consumo en los hogares disminuye hasta situarse en unas 3.000 toneladas entre mayo y julio; y a partir de agosto, cuando el mejillón empieza a recuperar su condición, el consumo también se recupera hasta que llegado diciembre se registra el máximo anual de consumo con un valor superior a las 6.000 toneladas (excepto en 2005 debido a la marcada incidencia del fitoplacton tóxico en las rías gallegas) (Gráfico 12).

Así pues el consumo en los hogares de mejillón fresco –la demanda final de este producto- muestra una marcada estacionalidad al adaptarse a los períodos de mejor condición del mejillón.

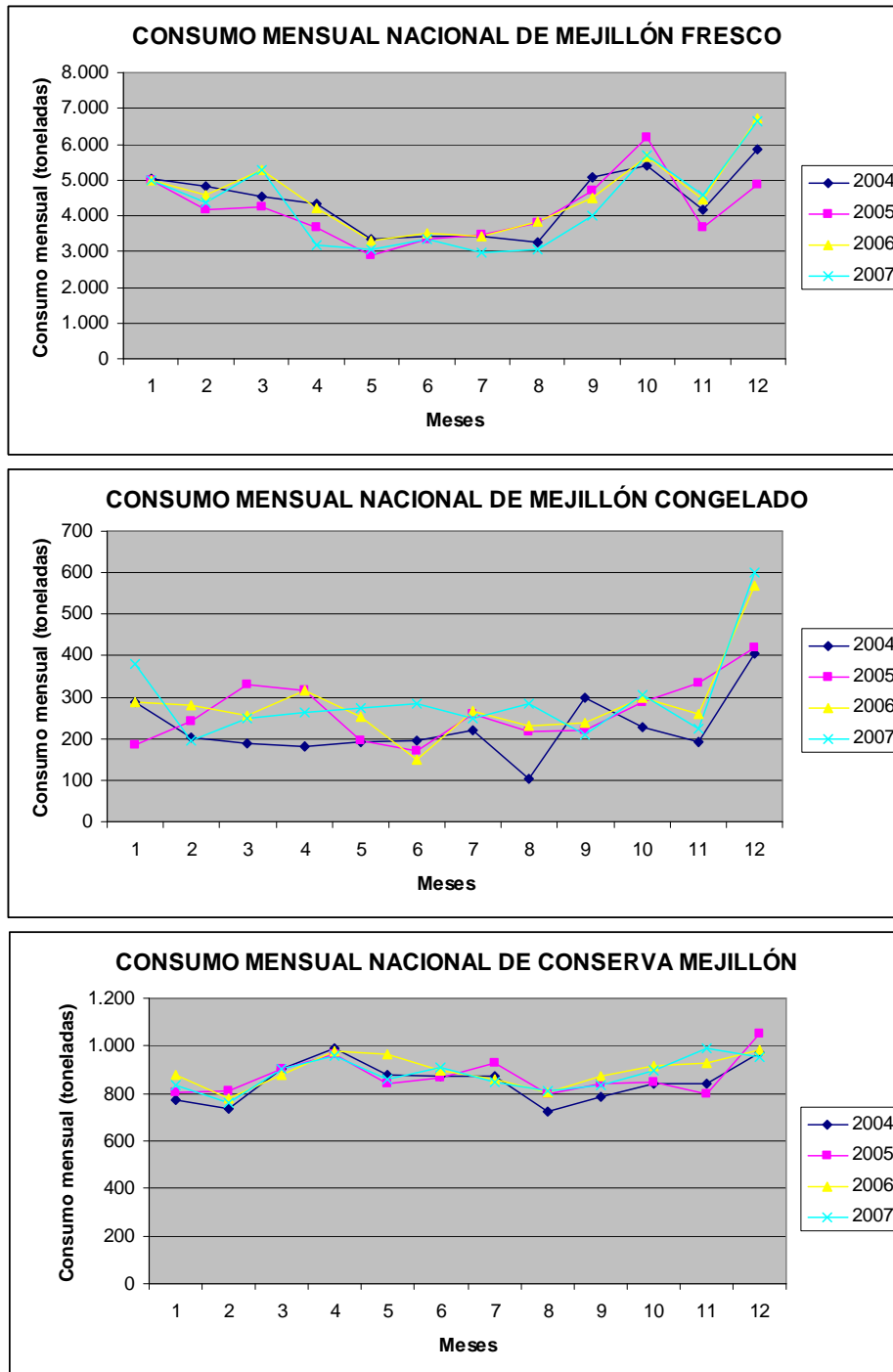
El consumo de mejillón congelado, al mantener una buena condición a lo largo del año, permanece prácticamente todo el año, entre las 200 y 300 toneladas mensuales. Y solamente en diciembre, se registra un repunte de consumo para este tipo de producto; llegando en los años 2006 y 2007 a valores cercanos a las 600 toneladas (Gráfico 12).

Así pues, la demanda final del mejillón congelado no muestra una estacionalidad muy marcada, con la excepción del tirón de consumo ligado a la campaña de Navidad.

Por último, el consumo nacional de conserva de mejillón muestra oscilaciones mensuales mucho menos importantes que los productos anteriores. En enero-febrero los hogares españoles consumen unas 800 toneladas mensuales de conserva de mejillón, en abril (cuando se inicia la época reproductiva del mejillón) se llega prácticamente a las 1.000 toneladas. En los meses posteriores el consumo cae progresivamente hasta que a partir de septiembre se inicia su recuperación, volviéndose a situar las cifras de consumo en torno a las 1.000 toneladas en el mes de diciembre (Gráfico 12).

Como la condición de la conserva de mejillón está desligada de los ciclos naturales, y la calidad ofertada de este producto es similar a lo largo de todo el año, parece que el consumidor final incrementa su demanda de conserva cuando el mejillón fresco muestra una menor condición.

En resumen, la demanda final-consumo en los hogares de mejillón fresco es claramente estacional (como sucede con la demanda en primera venta de mejillón fresco); la demanda final de congelado no muestra una estacionalidad tan marcada, a excepción del incremento de consumo que se registra durante la campaña de Navidad; y las variaciones mensuales en consumo de conserva son en general leves y contrarias durante el primer semestre del año a las observadas para el producto fresco.



**Gráfico 12.-** Distribución mensual del consumo en los hogares españoles de mejillón fresco, congelado y conserva de mejillón, entre 2004 y 2007.

## **5. VEDAS: GRUPO TOXICO, PRESENCIA GEOGRÁFICA Y TEMPORAL.**

En una primera aproximación a la caracterización y análisis de las vedas emplearemos la variable días de cierre por polígono (DPC) que es el resultado primario de la elaboración de la información original que nos proporciona la fuente -INTECMAR-.

La variable, DCP, es una medida a nivel batea-productor que hace referencia unívoca a cada polígono respecto al tiempo, y mide hasta cierto punto el grado de tensión que vive cada uno de los titulares de batea de cada polígono. Para la empresa individual es un indicador de la incertidumbre de los ingresos para el sustento familiar, y si es una sociedad puede ser la antesala de una situación de tensión de tesorería que requerirá medidas paliativas de carácter económico-mercantil.

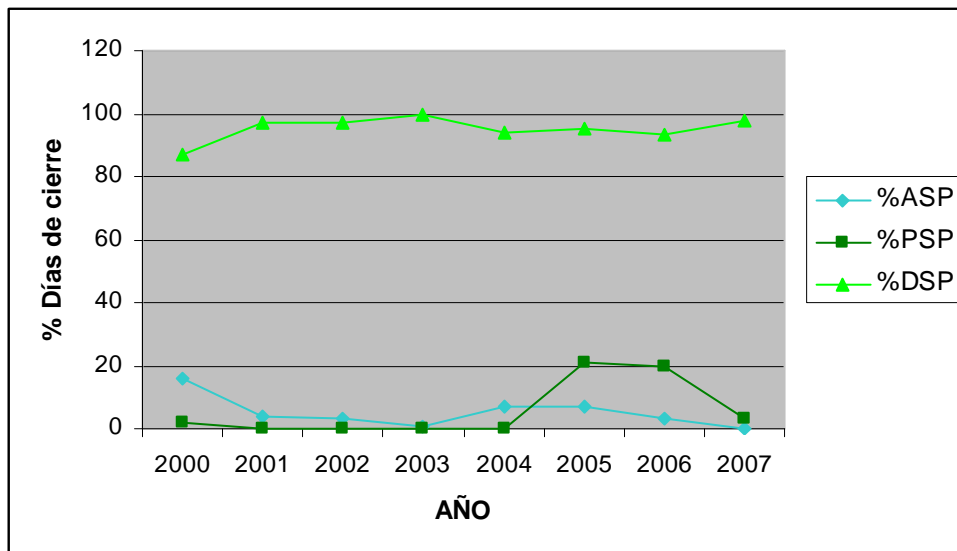
Esta medida nos servirá para clasificar los polígonos-bateas en función de la limitación temporal media anual para la comercialización de mejillón y nos dará idea de la distribución geográfica de las proliferaciones algales nocivas.

### **GRUPO TOXICO CAUSANTE DE LAS VEDAS.**

En primer lugar comprobamos que, como cabría esperar de la experiencia acumulada en más de veinte años de control del fitoplancton tóxico en las áreas de producción de mejillón en Galicia, entre 2000 y 2007, el grupo tóxico que ha originado el mayor número de cierres de las áreas de producción es, con mucha diferencia, el de las toxinas diarréicas-DSP (Gráfico 13).

Mientras que éstas toxinas provocan anualmente prácticamente el 100% de las vedas (medidas como días de cierre por polígono), el grupo de las toxinas paralizantes prácticamente no tiene presencia en las rías durante el período analizado, excepto en los años 2005 y 2006, en los que un 20% de las vedas tienen su origen en las toxinas PSP.

Por último, las toxinas amnésicas son todos los años responsables de menos del 10% de las vedas, excepto en 2000 que sumaron casi 20% de los cierres.



**Gráfico 13.-** Porcentaje anual de días de cierre por polígono provocados por los distintos tipos de biotoxinas marinas: amnésicas-ASP, paralizantes-PSP y diarreicas-DSP.

## INTENSIDAD Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS VEDAS.

En este apartado analizaremos la distribución geográfica del impacto de las toxinas, ya que, a lo largo de los años hemos comprobado que la incidencia de las toxinas no es geográficamente uniforme, con determinados polígonos-rías afectados reiteradamente y en mayor medida, y otros con muy poca presencia.

Como medida comparativa de la incidencia de las toxinas a nivel ría calculamos, en cada una de las rías, la media anual y la media para el periodo 2000-2007 del parámetro DCP-días de cierre por polígono (Tablas 5).

La ría de Pontevedra destaca como la de mayor afectación, ya que, entre 2000 y 2007, tanto en media anual como en media del período, en esta ría se registraron siempre los peores valores de incidencia de fitoplancton tóxico.

Así mientras que por término medio un polígono en la ría de Pontevedra permanece cerrado 179 días; uno de la ría de Muros soporta más de cuatro meses de vedas; en la ría de Ares-Betanzos los cierres acumulados por polígono son superiores a los tres meses y medio; en la Vigo los polígonos suman casi tres meses de vedas; y en Arousa (la ría de mayor capacidad productiva) los polígonos se mantienen cerrados dos meses.

**Tabla 5.-** Días de cierre por polígono-DCP medio anual y del periodo 2000-2007 para cada ría.

	DCP medio anual								DCP medio del periodo
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	
<i>RIA VIGO</i>	75	59	90	110	116	142	66	33	86
<i>RIA PONTEVEDRA</i>	206	116	162	238	236	251	151	74	179
<i>RIA AROUSA</i>	42	28	70	70	52	145	45	35	61
<i>RIA MUROS</i>	159	89	134	132	102	211	133	52	127
<i>RIA ARES</i>	114	78	112	74	66	180	125	75	103

Pasamos a continuación a detallar, ya dentro de cada ría la distribución de la incidencia de las biotoxinas marinas. Los datos que se exponen en la Tabla 6 contienen los DCP y su media aritmética de los años estudiados [estadístico en este caso suficientemente explicativo de la variable].

Si a este valor estadístico medio que representa la cantidad de días al año que cada uno de los polígonos está cerrado lo dividimos entre los 365 días que tiene el año, obtenemos el porcentaje de limitación temporal para comercializar mejillón.

A efectos meramente ilustrativos, en la tabla 6 se colorea el año en que cada polígono alcanza el máximo de intensidad en el período estudiado. Presentándose ese máximo para casi todos los polígonos en el año 2005.

**Tabla 6.-** Días de cierre por polígono (DCP) en los años 2000 a 2007, media aritmética del periodo y porcentaje de limitación media anual (%). Se marca en amarillo el año en el que cada polígono alcanzó el valor máximo de DCP.

		DIAS DE CIERRE POR POLIGONO-DCP									
POLIGONO	RIA	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	Media anual	% medio anual
Bueu A1	Pontevedra	278	151	169	271	291	273	167	90	211,3	57,9
Bueu B	Pontevedra	278	124	170	271	304	265	166	47	203,1	55,7
Bueu A2	Pontevedra	249	129	170	261	293	261	172	86	202,6	55,5
Cangas F	Vigo	195	144	170	209	274	280	188	84	193,0	52,9
Cangas A	Pontevedra	183	118	168	208	287	270	173	76	185,4	50,8
Cangas G	Vigo	171	121	178	204	278	266	177	84	184,9	50,7
Cangas B	Pontevedra	249	138	175	222	132	285	187	85	184,1	50,4
Cangas H	Vigo	148	112	171	202	266	261	170	91	177,6	48,7
Portonovo C	Pontevedra	150	88	142	218	226	237	124	73	157,3	43,1
Muros B	Muros-Noia	193	129	159	143	169	242	154	56	155,6	42,6
Portonovo B	Pontevedra	152	91	152	223	209	218	121	76	155,3	42,5
O Grove C2	Arousa	141	109	157	136	173	255	157	69	149,6	41,0
O Grove C4	Arousa	145	105	141	140	184	253	151	65	148,0	40,5
Portonovo A	Pontevedra	107	89	141	228	148	197	94	62	133,3	36,5
Muros A	Muros-Noia	165	85	123	144	76	212	123	50	122,3	33,5
Sada A	Ares-Betanzos	131	100	125	84	86	208	137	85	119,5	32,7
O Grove C1	Arousa	52	51	127	110	164	179	113	59	106,9	29,3
Noia A	Muros-Noia	120	53	120	109	60	180	123	50	101,9	27,9
O Grove C3	Arousa	53	47	117	97	118	183	109	63	98,4	27,0
Cangas D	Vigo	54	52	84	113	161	186	70	46	95,8	26,2
Cangas C	Vigo	64	67	78	112	129	196	75	40	95,1	26,1
Sada B	Ares-Betanzos	97	55	99	63	45	152	113	64	86	23,6
Cambados C2 S	Arousa	46	49	83	109	80	184	63	50	83,0	22,7
Cambados C1 N	Arousa	53	40	90	97	73	172	65	55	80,6	22,1
Ribeira C	Arousa	44	53	71	83	77	165	56	54	75,4	20,7
Vigo A	Vigo	91	45	57	99	114	135	38	22	75,1	20,6
Ribeira B	Arousa	47	41	67	79	71	159	60	48	71,5	19,6
Cambados B	Arousa	37	24	62	84	55	164	42	35	62,9	17,2
Cangas E	Vigo	42	47	60	90	80	128	30	21	62,3	17,1
A Pobra H	Arousa	34	26	46	69	41	148	54	49	58,4	16,0
Cambados A1	Arousa	51	12	61	68	34	153	15	25	52,4	14,3
O Grove A	Arousa	17	15	78	50	12	146	17	47	47,8	13,1
A Pobra D	Arousa	30	7	54	65	28	142	12	25	45,4	12,4
Redondela A	Vigo	28	36	62	83	38	63	16	4	41,3	11,3
Redondela E	Vigo	27	29	57	82	34	79	15	0	40,4	11,1
Vilagarcía B	Arousa	39	4	59	57	2	125	12	5	37,9	10,4
Cambados D	Arousa	13	3	61	45	0	135	0	42	37,4	10,2
A Pobra E	Arousa	19	7	46	70	20	97	17	5	35,1	9,6
A Pobra C	Arousa	23	3	39	48	0	115	10	25	32,9	9,0
A Pobra B	Arousa	26	3	26	41	0	123	14	20	31,6	8,7
Vilagarcía A	Arousa	8	3	45	45	10	96	9	0	27,0	7,4
Redondela D	Vigo	26	20	61	51	13	38	3	0	26,5	7,3
Redondela B-G	Vigo	28	15	58	39	5	36	12	0	24,1	6,6
A Pobra G	Arousa	18	3	39	21	0	76	10	16	22,9	6,3
Redondela C-F	Vigo	25	15	49	39	0	37	2	0	20,9	5,7
A Pobra A	Arousa	17	3	27	23	0	47	0	22	17,4	4,8
Cambados A2	Arousa	0	3	43	7	0	68	4	0	15,6	4,3

Al analizar la distribución geográfica de las vedas dentro de cada una de las rías comprobamos que tampoco es uniforme. Sin que estén definidas las variables que determinan estas circunstancias, constatamos que existe una mayor afectación de los polígonos localizados en las zonas más exteriores de las rías, siendo los polígonos más interiores y resguardados de las corrientes principales los que muestran menor afectación.

La visión gráfica de ese desigual impacto de las "mareas rojas" la obtenemos trasladando los datos extremos de la tabla 7 a su emplazamiento en el mar, lo que se representa en las Figuras 2 a 6, en las que se refleja la distribución geográfica de las vedas, constatando con una estrella roja aquellos polígonos que han permanecido cerrados, entre 2000 y 2007, por término medio más de un tercio del año (más de 120 días). Aquellos otros polígonos en los que la afectación es igual o inferior al 16% del año -lo que significa menos de dos meses cerrados-, más resguardados, los señalamos con una estrella verde. Y por último, los polígonos con cierres de entre dos y cuatro meses, con una localización media en las rías, se marcan con una estrella de color amarillo.

Los quince polígonos que acumulan prohibiciones medias de más de cuatro meses en el año están ocupados por 875 bateas, lo que supone algo más de un cuarto del total de las bateas de cultivo de mejillón en Galicia.

Como se comentó anteriormente, en el período que va de 2000 a 2007 la ría que soportó los cierres más prolongados debido a la presencia de toxinas fitoplanctónicas en el mejillón fue con diferencia la de Pontevedra, en la cual el 100% de los polígonos estuvieron cerrados más de 120 días al año. Además, en esta ría, tres polígonos mantuvieron la prohibición de extracción media anual durante prácticamente siete meses (polígonos Bueu A1, B e A2).

La situación de la ría de Pontevedra se explica en el hecho de que en esta ría el período de tiempo entre dos episodios de floración de *Dinophysis* spp. suele ser tan corto que resulta insuficiente para que el mejillón depure las toxinas antes de que se produzca un nuevo incremento en la concentración de células<sup>3,4</sup>. Según Pazos *et al.* (2003)<sup>5</sup> esta ría se ve más afectada por *D. acuminata* y *D.*

---

<sup>4</sup> Blanco, J.; Moroño, A.; Pazos, Y.; Maneiro, J. e Mariño, J. (1998). Trends and variations of the abundance of main PSP and DSP producing species in the Galician Rías: environmental and biological influences. En: B. Reguera, J. Blanco, M<sup>a</sup> L. Fernández e T. Wyatt (Eds.), **Harmful algae**. Proceedings of the VIII International Conference on Harmful Algae, Vigo, España, 1997. Xunta de Galicia & IOC UNESCO, pp. 204-207.

<sup>5</sup> Pazos, Y.; Moroño, A.; Miranda, M. e Maneiro, J.C. (2003) Evolución de las condiciones oceanográficas y fitoplancton tóxico/nocivo en los años 1999-2000 en las Rías Gallegas, En: Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana (ed.), **Actas da VII Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas**, 146-173.

*acuta*, tanto en persistencia temporal como en concentraciones celulares, debido posiblemente a diferencias topográficas frente a las otras rías.

La segunda ría más castigada por las proliferaciones de fitoplancton tóxico fue la de Muros-Noia, dado que el 82% de las bateas de mejillón allí fondeadas (polígonos Muros A y B) se mantuvieron cerradas más de un tercio del año.

En el resto de las rías se registraron cierres medios de más de 120 días, en un 31% de las bateas fondeadas en la ría de Vigo (polígonos Cangas F, Cangas G y Cangas H) y un 12% de las situadas en la ría de Arousa (polígonos Grove C2 y Grove C4).

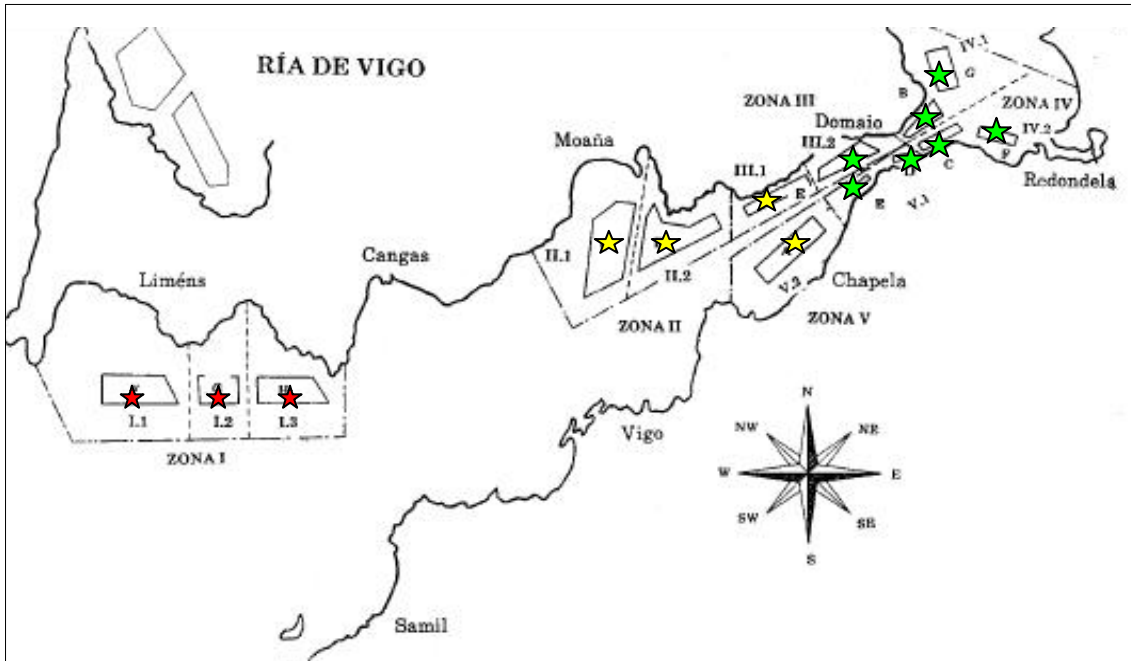
Ninguno de los polígonos de la ría de Ares-Betanzos superó los 120 días de cierre medio anual.

En cuanto a los polígonos de menor afectación, con cierres medios anuales inferiores a los dos meses, aunque se localizan solo en el interior de la ría de Vigo y de la de Arousa, se refieren al 48% de las bateas de mejillón gallegas, esto es 1.620 bateas, de las que 1.501 están fondeadas en la ría de Arousa y de las 119 de la ría Vigo.

Estos polígonos se constituyen como las zonas de garantía de suministro de mejillón ya que por norma general permanecen abiertos prácticamente todo el año.



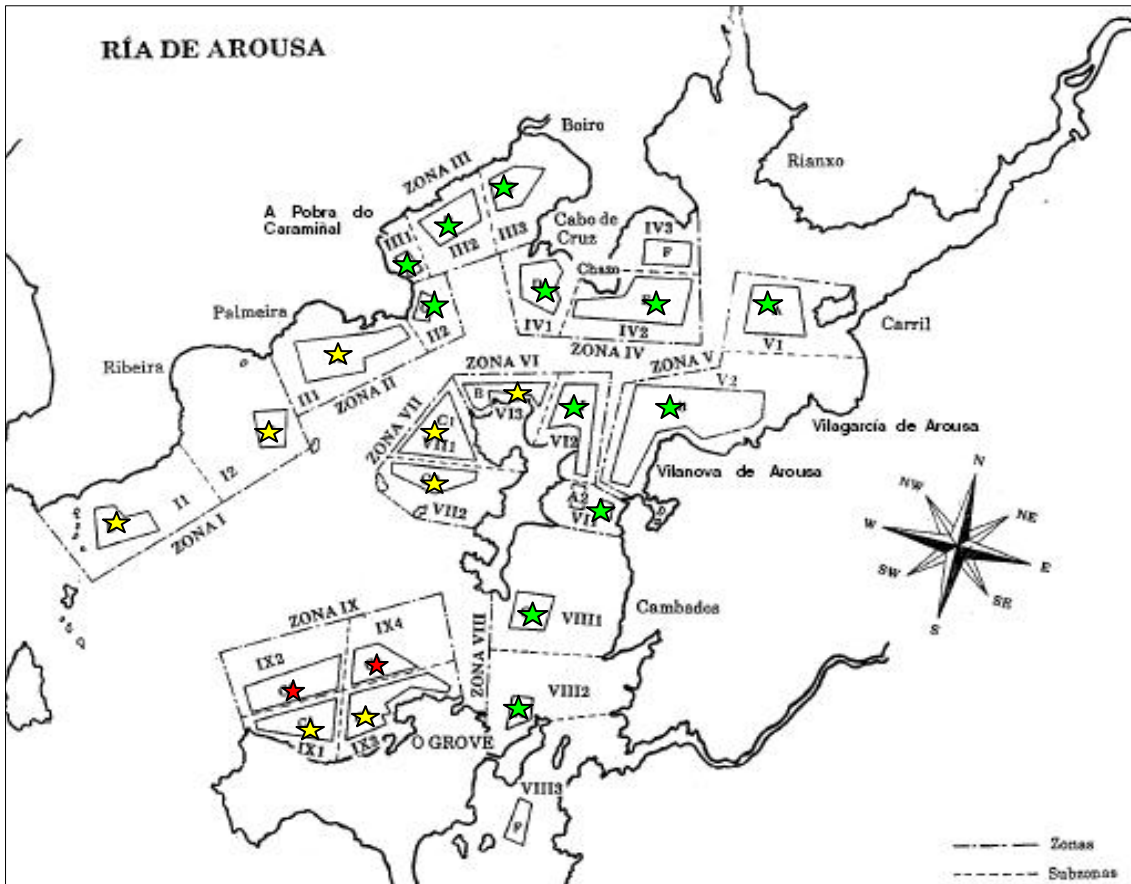
## DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LAS VEDAS - REPRESENTACIÓN GRÁFICA.



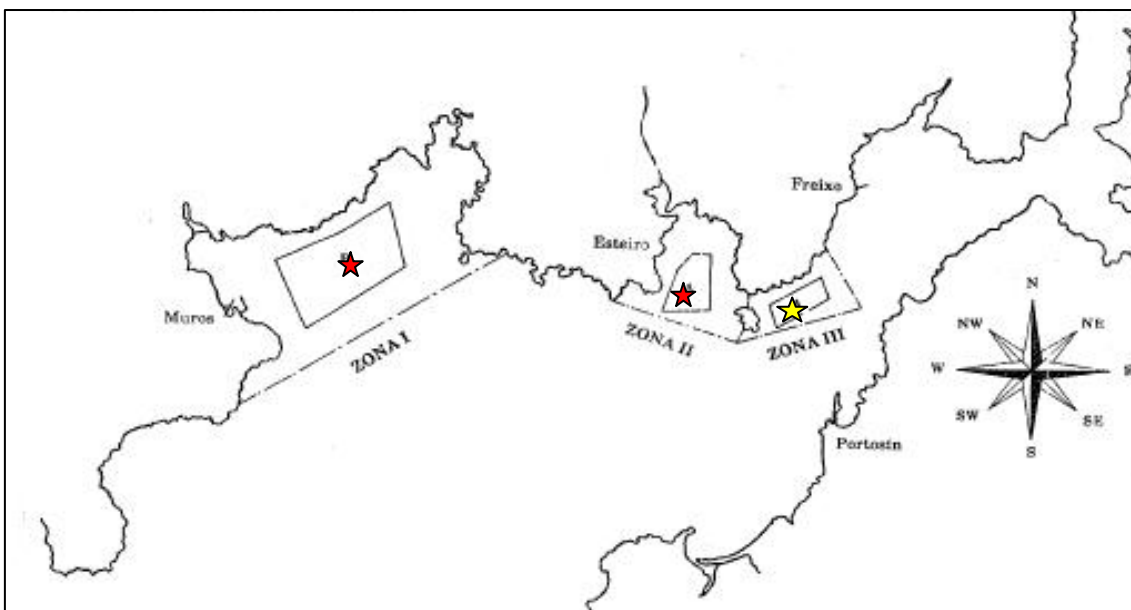
**Figura 2.-** Polígonos mejilloneros de la ría de Vigo. La estrella roja marca los polígonos que permanecieron cerrados por término medio más de cuatro meses al año; la verde los polígonos que acumularon cierres medios anuales inferiores a 2 meses; y la estrella amarilla marca los polígonos con vedas medias anuales de entre 4 y 2 meses.



**Figura 3.-** Polígonos mejilloneros de la ría de Pontevedra. La estrella roja marca los polígonos que permanecen cerrados por término medio más de cuatro meses al año.



**Figura 4.-** Polígonos mejilloneros de la ría de Arousa. La estrella roja marca los polígonos que permanecen cerrados por término medio más de cuatro meses al año; la verde los polígonos que acumulan cierres medios anuales menores a 2 meses; y la estrella amarilla marca los polígonos con vedas medias anuales de entre 4 y 2 meses.



**Figura 5.-** Polígonos mejilloneros de la ría de Muros-Noia. La estrella roja marca los polígonos que permanecen cerrados por término medio más de cuatro meses al año; y la estrella amarilla marca los polígonos con vedas medias anuales de entre 4 y 2 meses.



**Figura 6.-** Polígonos mejilloneros de la ría de Ares-Betanzos. La estrella amarilla marca los polígonos con una media de cierres anuales de entre 4 y 2 meses.

En resumen, entre 2000 y 2007 la ría de Pontevedra fue nuevamente la más afectada por los episodios tóxicos, ya que un 100% de las bateas allí fondeadas permanecieron cerradas por término medio más de cuatro meses al año.

Contrariamente la ría de Arousa resultó la menos afectada ya que el 67% de sus bateas permanecieron cerradas por término medio menos de 2 meses al año.

La incidencia de las toxinas tampoco es geográficamente uniforme dentro de las rías, con polígonos afectados reiteradamente y en mayor medida y otros con mucha menor limitación comercial por cierre administrativo.

- Los polígonos de menor afectación, con cierres medios anuales inferiores a los dos meses, se ubican solamente en el interior de la ría de Vigo y de la de Arousa, y suponen el 37% de las bateas de mejillón gallegas. Estas son las zonas de reserva de producto.
- Las bateas más afectadas se localizan en todos los polígonos de la ría de Pontevedra y en polígonos exteriores de las restantes rías, siendo estas las zonas que denominamos de tensión.

La distribución geográfica desigual de la incidencia de las microalgas tóxicas que origina la existencia de áreas de tensión y áreas de reserva de producto, es un factor importante dentro del análisis de la incidencia de las mareas rojas sobre el sector miticultor gallego.

Los productores con bateas situadas en las áreas de mayor afectación (polígonos exteriores y rías de Pontevedra), que por tanto mantienen su producto parado durante muchos meses, acumulan una tensión que es directamente proporcional a la limitación temporal de la comercialización y se incrementa en la medida en que el productor percibe que al retrasar la comercialización de su producto se incrementa el riesgo de sufrir pérdidas de biomasa-producción (por ejemplo, si es época de temporales o de desove del mejillón).

Esta tensión se traslada del productor individual al conjunto del sector si las aperturas de estas zonas se producen de forma masiva y no escalonadamente, puesto que se registra una situación de exceso de oferta que si no es bien gestionada por el conjunto del sector puede llevar pareja la caída del precio del mejillón, con las consiguientes pérdidas económicas.

Este problema de sobreoferta asociado a las proliferaciones de fitoplancton nocivo tiene solución, tanto a nivel batea-productor, como a nivel sector, en la autorregulación de la oferta a través de sólidas estructuras organizativas que, basadas en la confianza y fidelidad, trabajan con sistemas de reserva de cupos.

Pero si el sector no consigue autorregularse, el mercado, ante una situación de sobreoferta, responde reajustando precios a la baja, con la consiguiente pérdida de rentabilidad para los productores (tanto a nivel individual como colectivo).

Otra cuestión a tener presente en el análisis del impacto de las toxinas sobre el sector mitilicultor gallego, tiene que ver con que al igual que la distribución geográfica de las vedas no es homogénea, existe una cierta especialización en la producción de mejillón a nivel geográfico, tanto en el tipo de producto (especial-normal) como en su destino final (fresco-fábrica), debido entre otros, a factores oceanográficos. Los polígonos exteriores -los de mayor afectación por las vedas- son los que producen mejillón de mayor talla que se comercializan mayoritariamente como mejillón fresco, y los polígonos más interiores -los que permanecen cerrados menos tiempo- son los que producen sobre todo mejillón normal con destino a fábrica.

Recordar que para el producto fresco la demanda que el sector productor no puede abastecer -por estar en situación de veda- es se pierde. Y para el producto de fábrica aunque la demanda que los productores no pueden abastecer puede ser hasta cierto punto postergada (dado que las fábricas acumulan stock), una situación de veda origina perjuicios económicos al sector-productor individual ya que, por un lado se pierde rentabilidad al retrasar la venta y además puede ocurrir que al mantener más tiempo el mejillón en la batea se reduzca la condición del mismo o se pierda producción, con la consiguiente pérdida de rentabilidad.

## **DISTRIBUCION TEMPORAL DE LOS CIERRES POR BIOTOXINAS.**

En una primera aproximación podríamos ordenar los años, según el grado decreciente de incidencia de biotoxinas medido como sumatorio anual de los días de cierre para la totalidad de los polígonos analizados (Tabla 7), situando los años 2005 y 2003 como los peores y a 2007 a 2001 como los mejores.

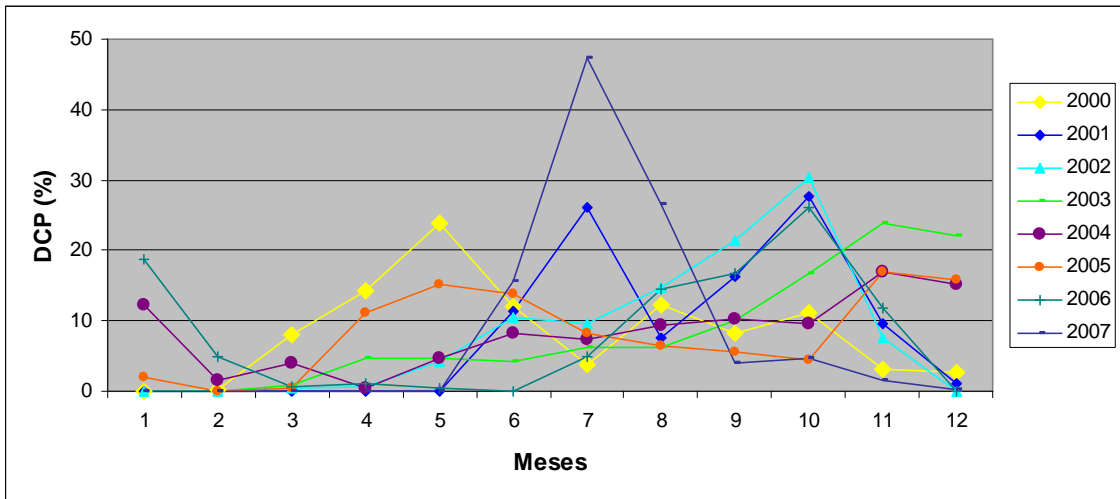
**Tabla 7.-** Para el período 2000-2007, sumatorio de los días de cierre por polígono anuales.

<b>AÑO</b>	<b>DCP total anual</b>
<b>2000</b>	4.164
<b>2001</b>	2.664
<b>2002</b>	4.537
<b>2003</b>	5.312
<b>2004</b>	4.860
<b>2005</b>	7.890
<b>2006</b>	3.640
<b>2007</b>	2.071

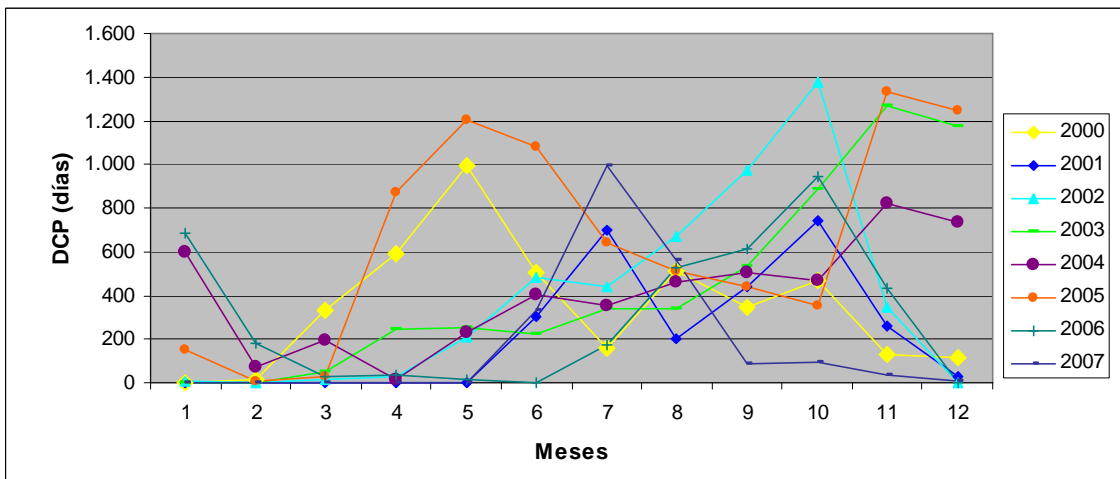
Pero este dato anual no aporta demasiada información sobre los impactos negativos que las vedas por toxinas suponen para el sector. Por lo que pasamos a analizar la estacionalidad mensual de los cierres administrativos de los polígonos causados por toxinas.

Excepto en 2000 y 2005, el segundo semestre del año es el período de mayor incidencia del fitoplancton tóxico en las rías, acumulando por lo general más del 70% de los cierres.

Normalmente los episodios de toxinas más generalizados se registran en octubre-noviembre, aunque respectivamente en 2000 y 2007 mayo y julio fueron los meses que acumularon mayor número de días de cierre (Gráficos 14 y 15).



**Gráfico 14.-** Porcentaje mensual del sumatorio días de cierres administrativos del total de los polígonos mejilloneros-DCP entre 2000 y 2007.



**Gráfico 15.-** Distribución mensual del sumatorio de días de cierre por polígono- DCP entre 2000 y 2007.

Como se comentó en la introducción, se suelen registrar dos episodios anuales originados por las biotoxinas DSP, uno en primavera y otro que comienza a finales del verano-principios de otoño y que en algunas ocasiones se prolonga hasta enero del año siguiente.

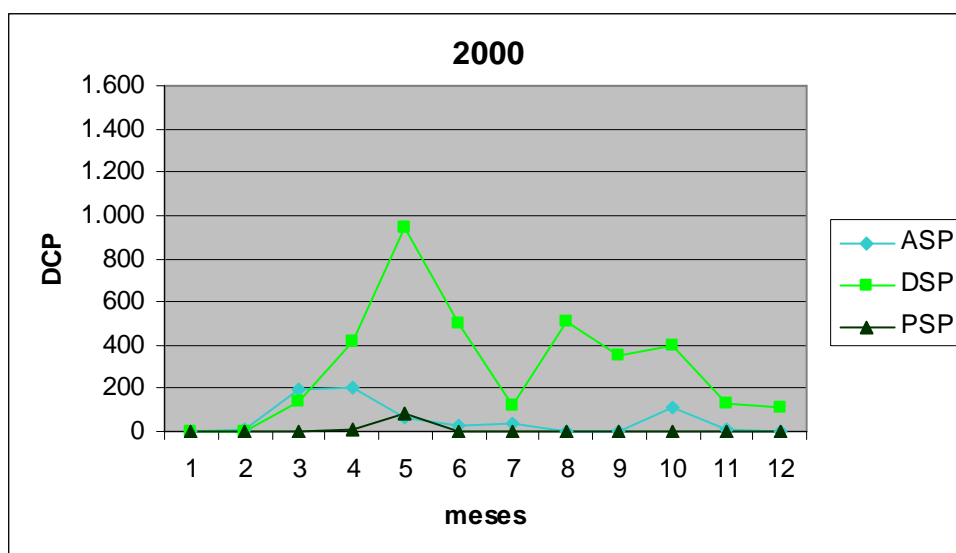
Cierres más o menos generalizados asociados a toxinas PSP solamente se producen en años excepcionales, cuando las condiciones oceanográficas son tales que provocan la introducción en las rías de poblaciones del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum*.

Los episodios ligados a toxinas ASP tienen corta duración y suelen registrarse durante la primavera y el final del verano.

El comportamiento del fitoplancton tóxico en 2000 se separó de este patrón general ya que el máximo de incidencia de estas microalgas se registró en primavera, siendo además la incidencia de las biotoxinas a finales de año relativamente pequeña (Gráfico 16).

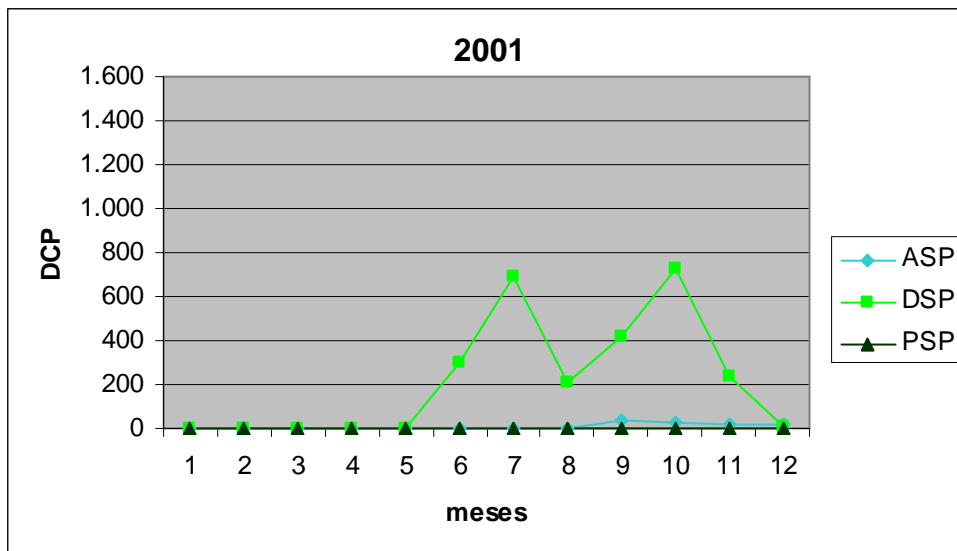
Los cierres del mes de abril se debieron en parte a la presencia de toxina ASP en los mejillones y tuvieron continuación a partir de mayo debido a la toxicidad DSP ocasionada por un fuerte afloramiento de *Dynophysis acuminata* asociado a la marcada estratificación de la columna de agua registrada en ese mes.

Por otra parte, la baja incidencia en otoño fue consecuencia de los fuertes temporales invernales que ocasionaron un masivo aporte de agua dulce a las rías, hecho que dificultó el desarrollo de las poblaciones de *Dinophysis* spp. en el segundo semestre.



**Gráfico 16.-** Distribución mensual en 2000 de los DCP según grupo tóxico.

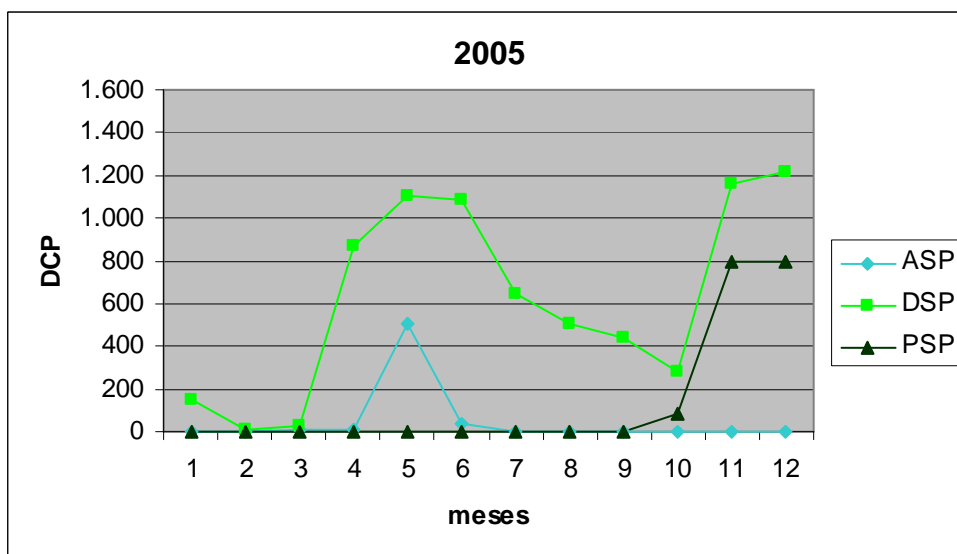
Como se puede observar en el gráfico 17, en 2001 hubo una inusual ausencia de fitoplancton tóxico durante el primer semestre del año, resultando que el 100% de los polígonos mejilloneros estuvieron abiertos entre enero y mayo-. En segundo semestre como es habitual se registraron dos episodios de toxicidad DSP claramente diferenciados, uno en verano y otro en otoño.



**Grafico 17.-** Distribución mensual en 2001 de los DCP según grupo tóxico.

Dos mil cinco resulto un año excepcional por la virulencia de los episodios tóxicos. El episodio DSP de primavera fue especialmente intenso y generalizado; y además el segundo episodio DSP, que se inició más tarde –en noviembre-, coincidió con un excepcional episodio PSP.

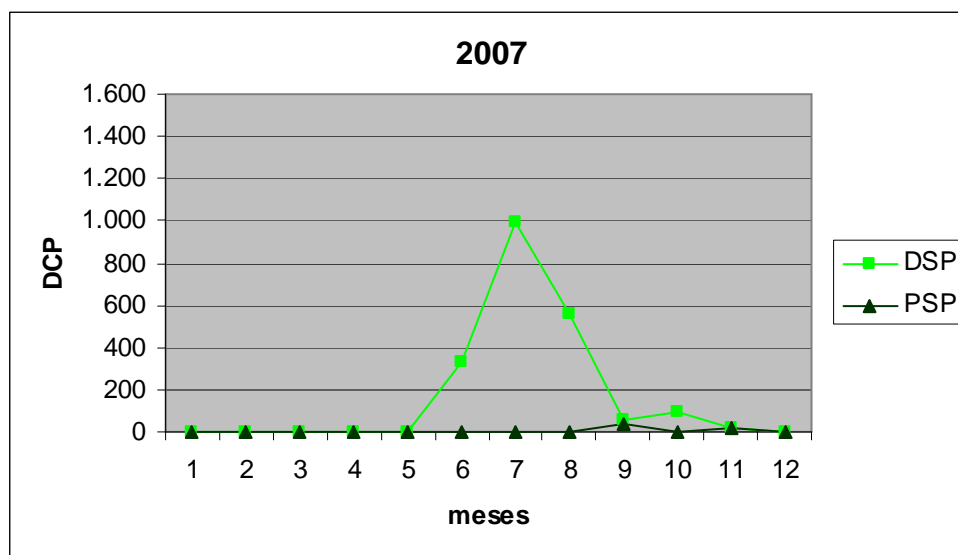
Tras diez años sin que se desarrollaran poblaciones de *G. catenatum* en las rías, a finales de 2005 se registró un episodio de toxicidad PSP que provocó cierres en todas las rías, excepto en la de Ares-Betanzos, y se prolongo hasta el año siguiente (Gráfico 18).



**Grafico 18.-** Distribución mensual en 2005 de los DCP según grupo tóxico.



Por último el 2007, fue un año especialmente benigno por la baja incidencia del fitoplancton tóxico en las rías, ya que: entre enero y mayo el 100% de las bateas permanecieron abiertas, no se registró ningún episodio ASP en todo el año y el episodio DSP de principios de otoño fue excepcionalmente leve (Gráfico 19).



**Gráfico 19.-** Distribución mensual en 2007 de los DCP según grupo tóxico.

Resaltar que, aunque con excepciones, entre 2000 y 2007 el segundo semestre del año –a partir de septiembre- acumula la mayor cantidad de vedas administrativas, y estos cierres coinciden en el peor momento para el sector ya que es en estos meses finales del año cuando se registra la mayor demanda de su producción.

## GENERALIZACIÓN DE LAS VEDAS.

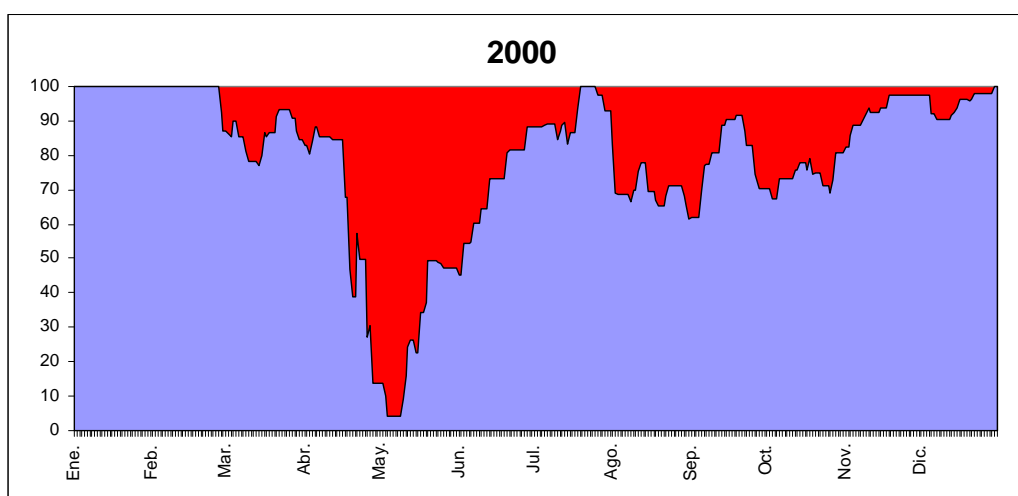
Un aspecto importante, que modula la repercusión de las proliferaciones algales nocivas sobre el conjunto del sector mitilicultor y por extensión sobre el cluster (especialmente empresas procesadoras, conserveras y centros de expedición-depuración), es el número de bateas que permanecen cerradas simultáneamente por causa de las toxinas.

En los gráficos 20-27 se representa el porcentaje de bateas que diariamente permanecieron abiertas (color azul) frente al porcentaje de bateas cerradas (color rojo) en los años 2000 hasta 2007.

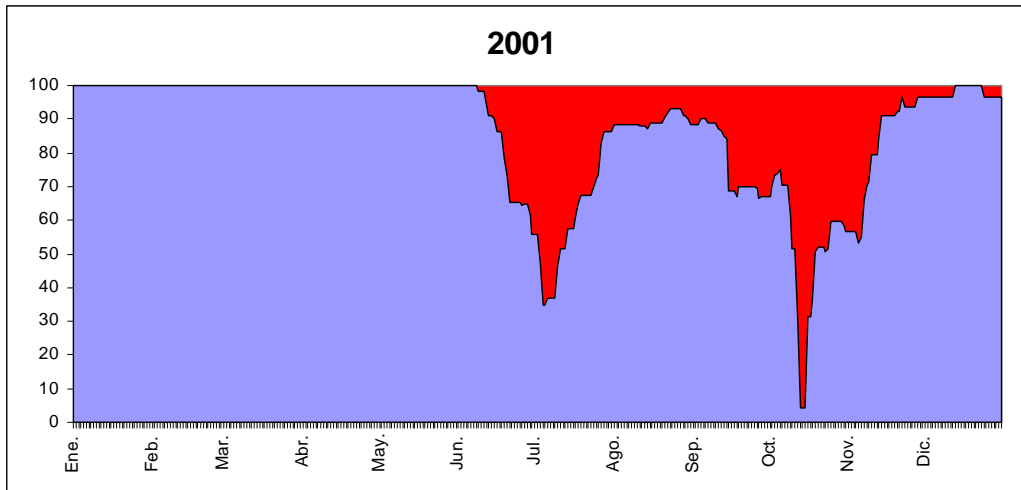
En estos gráficos observamos claros estrangulamientos de la producción-oferta todos los años excepto en 2004:

- durante casi dos semanas en mayo del 2000;
- apenas 3 días de octubre en 2001;
- entre el 21 de septiembre y el 31 de octubre de 2002 (con 21 días en los que estaba prohibida la extracción de mejillón en el 100% de las bateas);
- cuarenta y cinco días entre noviembre y diciembre de 2003;
- más de dos semanas y media en mayo, otros 18 días entre junio y julio, y 65 días más desde octubre a diciembre de 2005;
- arrastrado del episodio final del año anterior, nueve días de enero en 2006;
- y en 2007 menos de una semana en julio.

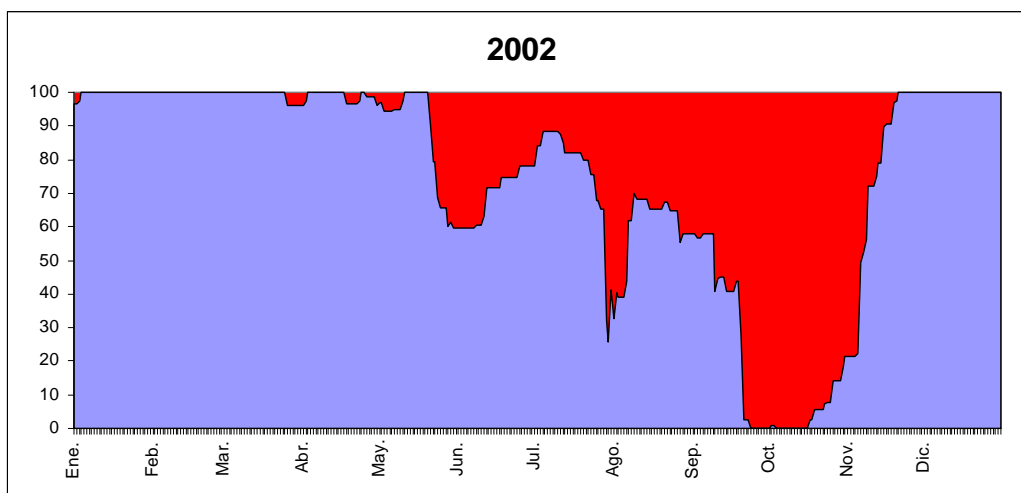
En estos momentos de generalización de los cierres, en los que más del 85% de las unidades de producción no pueden comercializar ni cosechar su producción, la demanda difícilmente puede ser atendida.



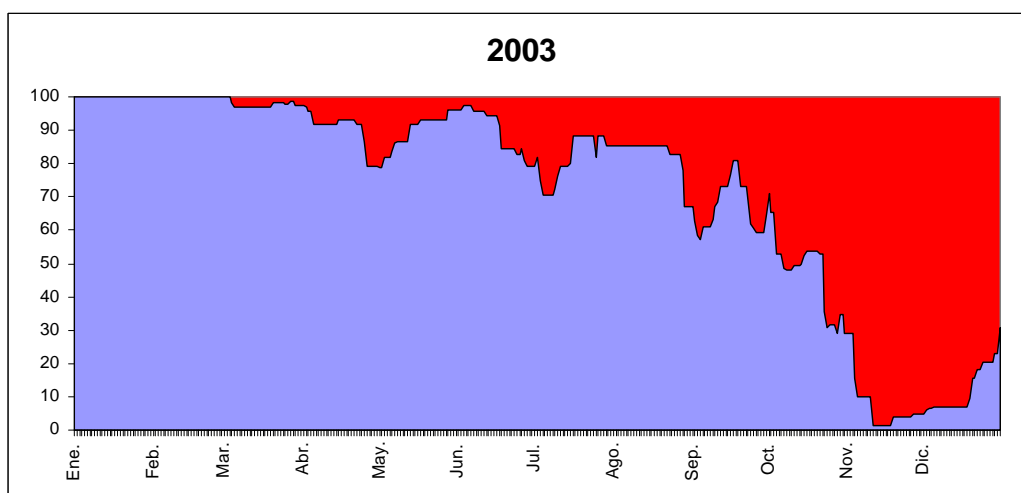
**Gráfico 20.-** En azul se representa el porcentaje de bateas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2000.



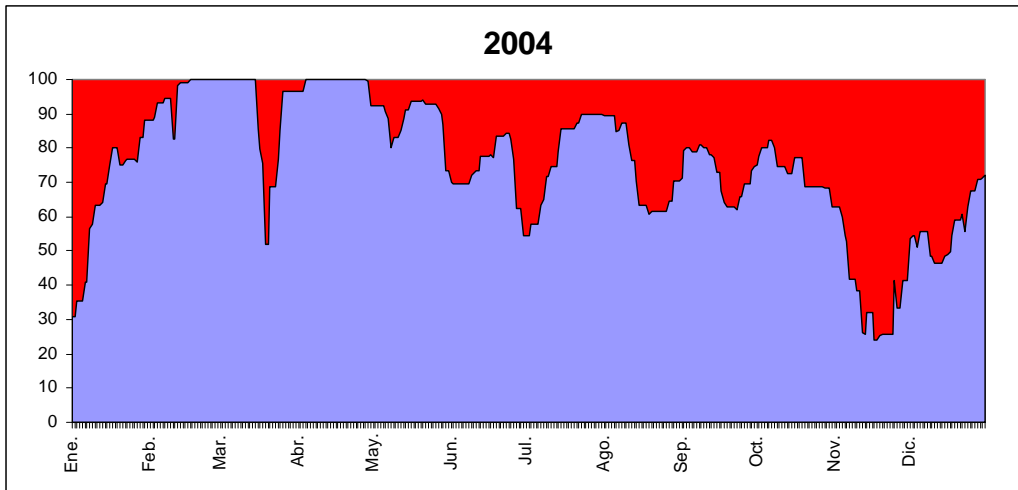
**Gráfico 21.-** En azul se representa el porcentaje de bateas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2001.



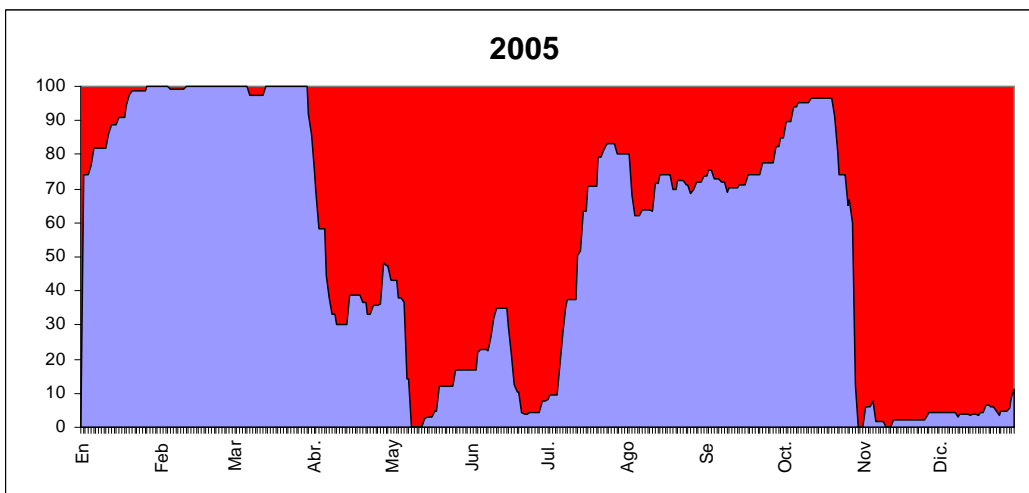
**Gráfico 22.-** En azul se representa el porcentaje de bateas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2002.



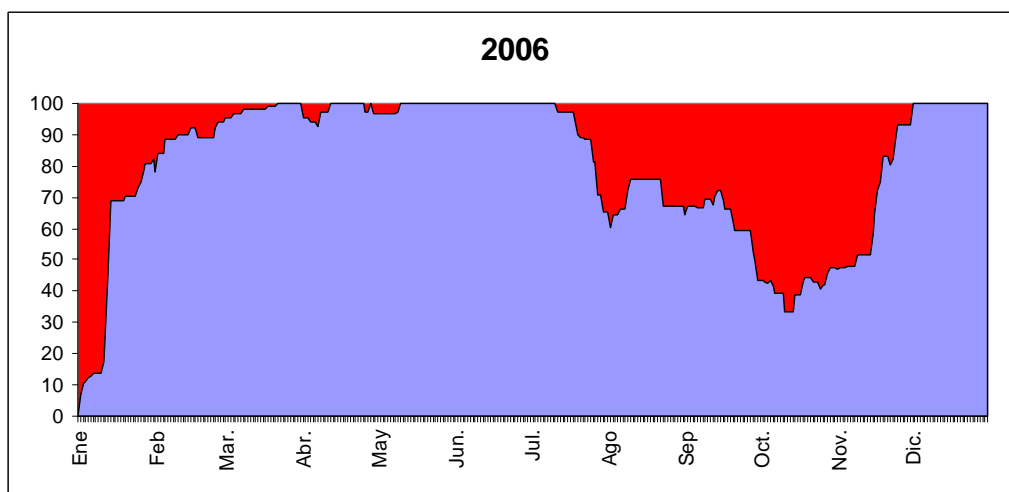
**Gráfico 23.-** En azul se representa el porcentaje de bateas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2003.



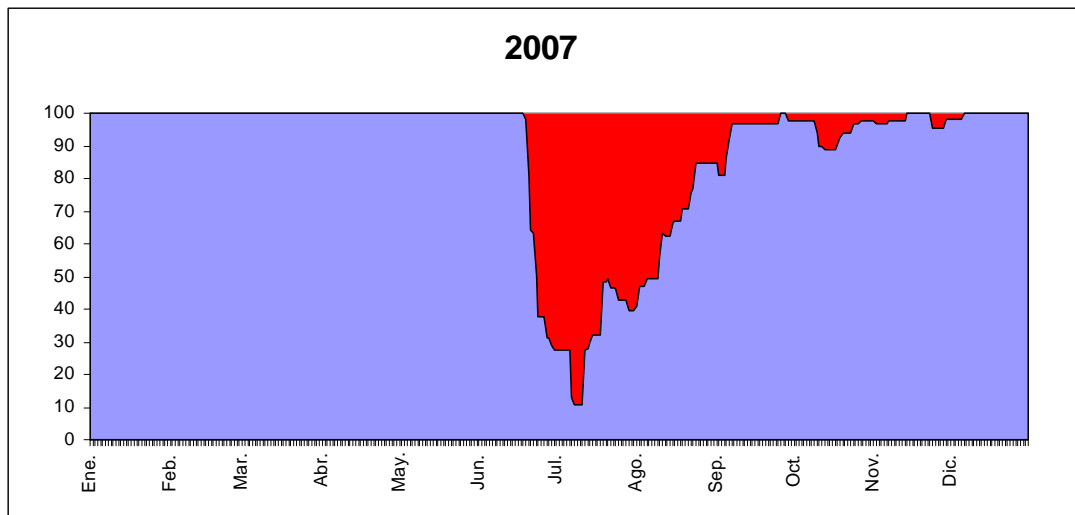
**Gráfico 24.-** En azul se representa el porcentaje de batesas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2004.



**Gráfico 25.-** En azul se representa el porcentaje de batesas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2005.



**Gráfico 26.-** En azul se representa el porcentaje de batesas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2006.

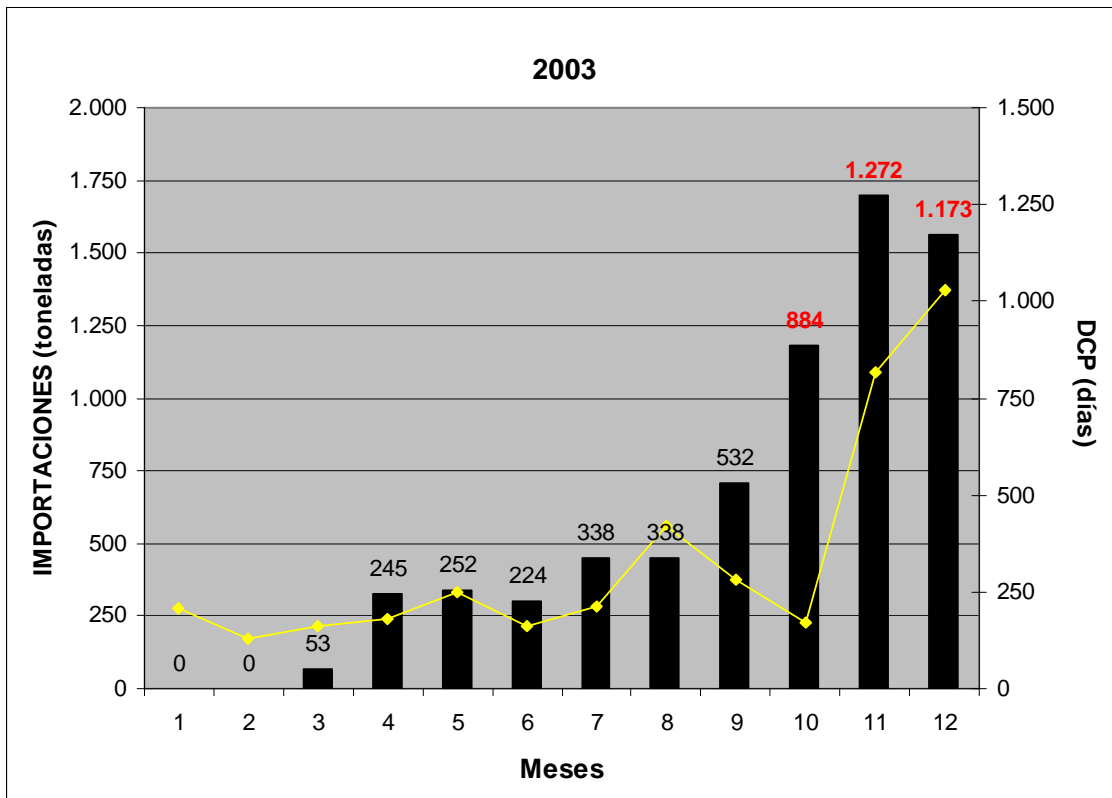


**Gráfico 27.-** En azul se representa el porcentaje de batesas abiertas diariamente en Galicia durante el año 2007.

Cuando las vedas se generalizan afectando a gran número de batesas en un mismo tiempo, incluso las zonas de garantía de suministro (polígonos interiores, especialmente de las rías de Vigo y Arousa) están cerradas, puede suceder que el conjunto del sector productor no disponga de producto suficiente para abastecer las necesidades de sus clientes directos: centros de depuración-expedición, empresas procesadoras y conserveras.

En este caso se pueden producir dos situaciones. Por un lado, que las empresas que trabajan exclusivamente con producto gallego se vean abocadas a la paralización de sus actividades durante un tiempo. O bien, que aquellos que no tengan esta vinculación tan estrecha con el mejillón gallego busquen su sustitución por un producto foráneo aumentando así las importaciones de mejillón.

Esta última situación la podemos observar claramente en el gráfico 28, donde se confronta los DCP mensuales con las importaciones de mejillón fresco para el año 2003. En ese año mientras que las importaciones mensuales de mejillón fresco se mantuvieron todos los meses entre 600 y 200 toneladas, en noviembre y diciembre –momento de máximo estrangulamiento de la oferta gallega de mejillón y de máxima demanda de este producto- las importaciones se dispararon hasta situarse por encima de las 1.000 toneladas-mes, hecho que no se había registrado nunca antes.



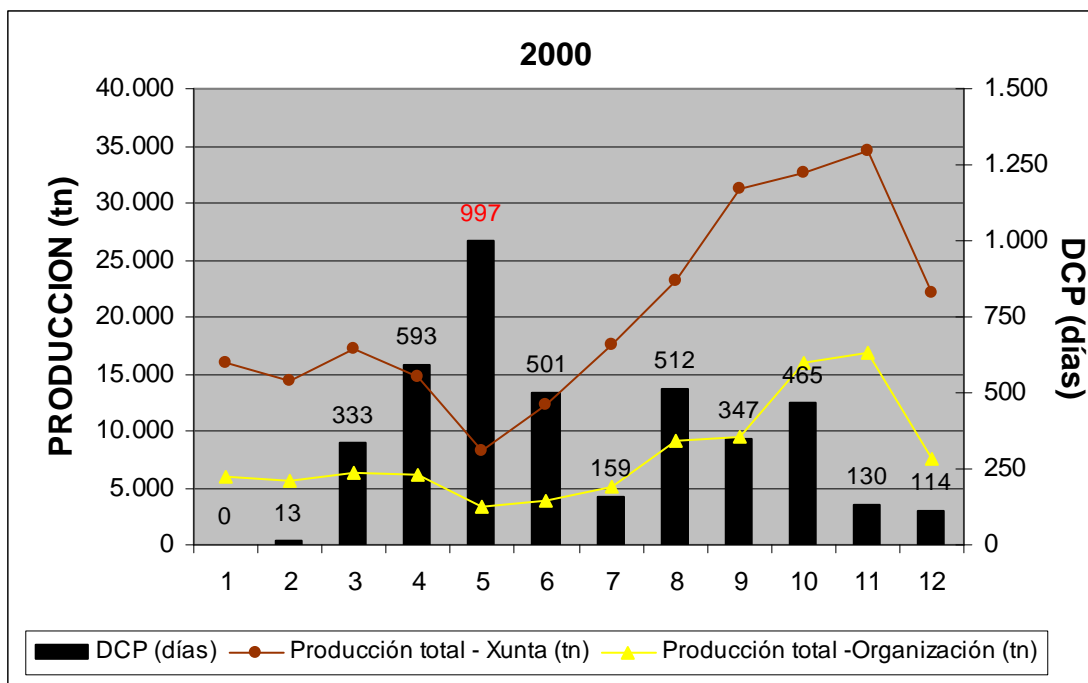
**Gráfico 28.-** Evolución mensual de las importaciones de mejillón fresco frente al sumatorio mensual de la variable DCP en el año 2003.

## 6. INCIDENCIA DE LAS VEDAS EN LA PRODUCCIÓN-OFERTA.

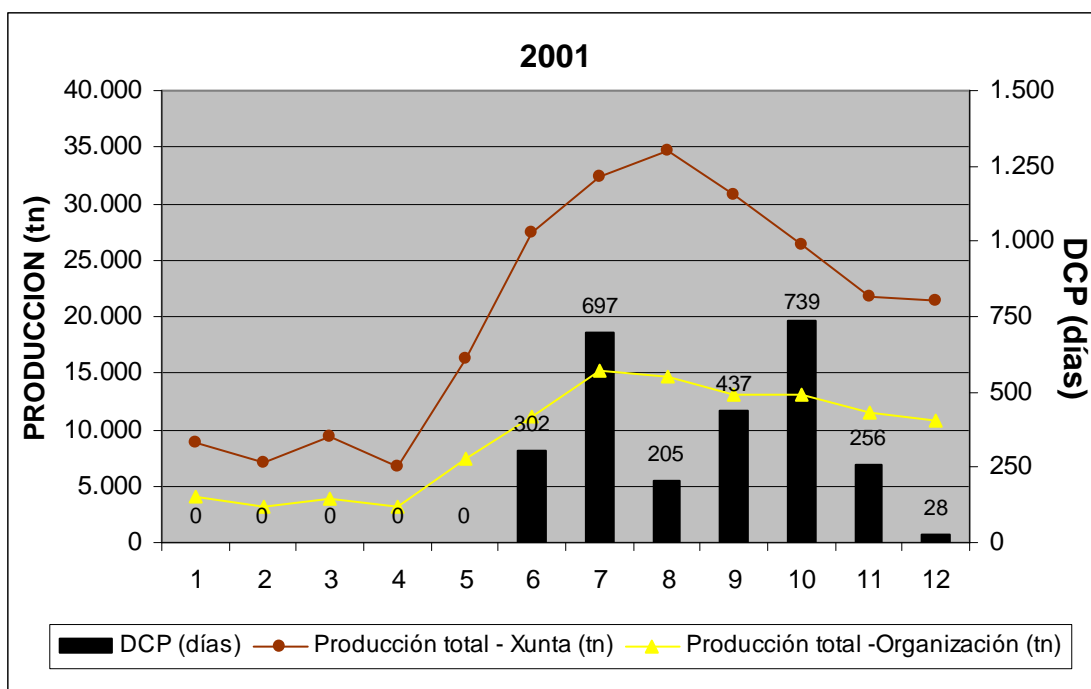
### COMPARACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LA PRODUCCIÓN Y DE LAS BIOTOXINAS.

Entre 2000 y 2007, de la comparación entre la distribución temporal de la producción total (gallega y de la muestra) con la distribución temporal de las vedas (DCP) podemos constatar que generalmente cuando en un mes acumula más de 800 días de cierre se produce una caída de la extracción de mejillón, tanto en la muestra como en el total de Galicia (Gráficos 29 a 36).

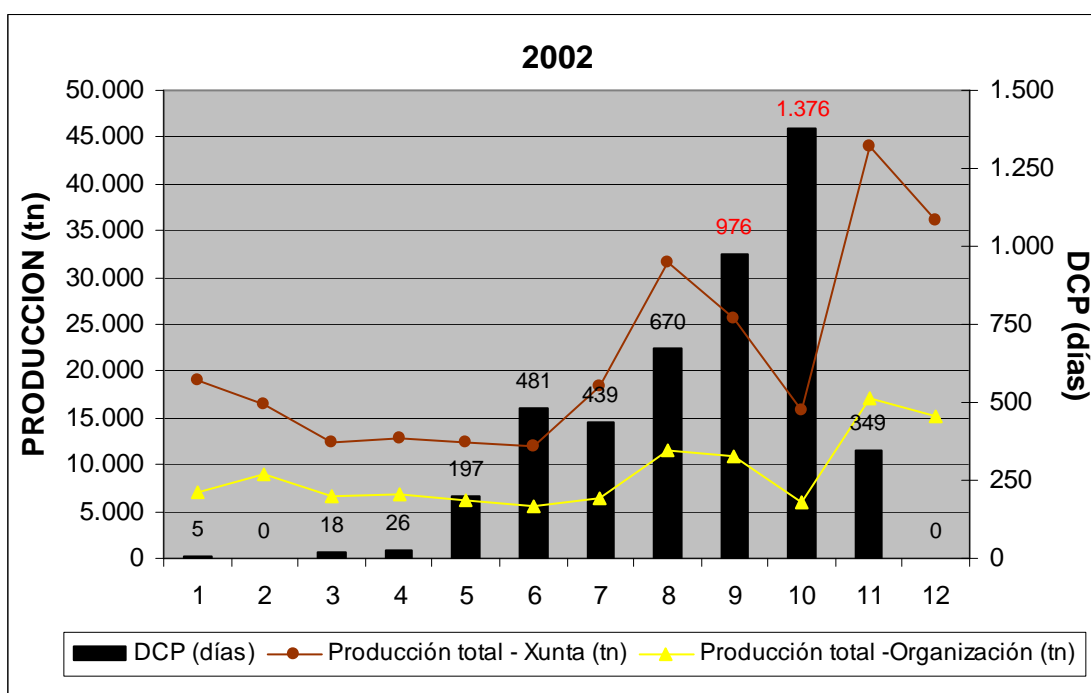
El comportamiento mensual de la producción total gallega y de la muestra es básicamente el mismo, excepto contadas excepciones, lo que indica que la muestra puede considerarse como representativa del global de la producción gallega.



**Gráfico 29.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2000.

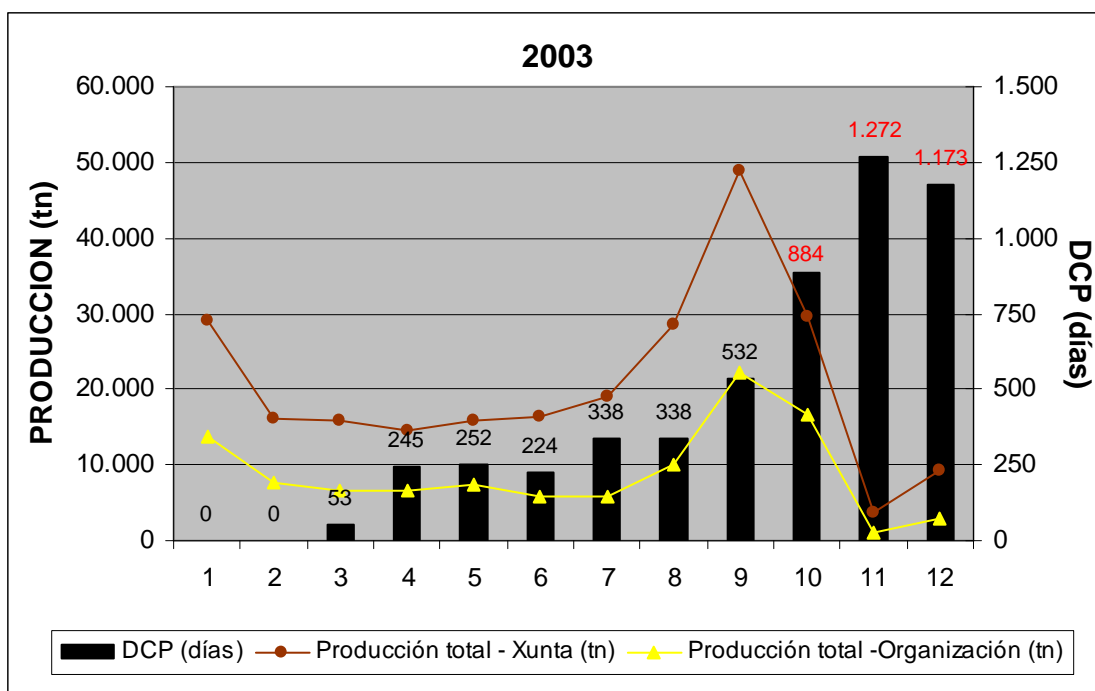


**Gráfico 30.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2001.

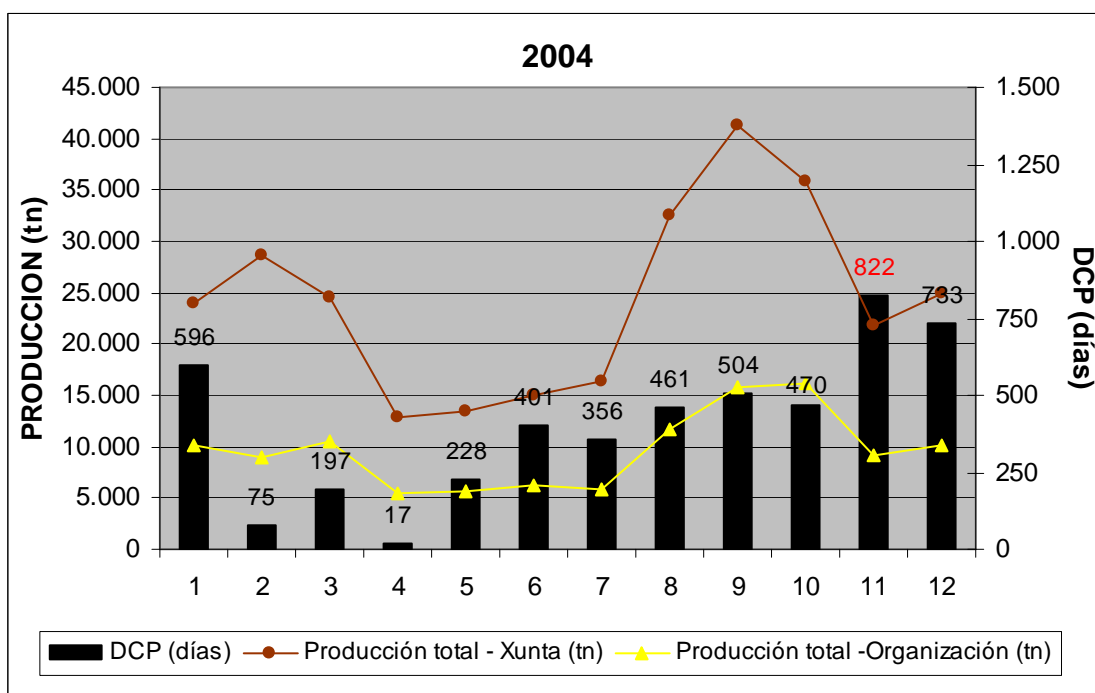


**Gráfico 31.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2002.

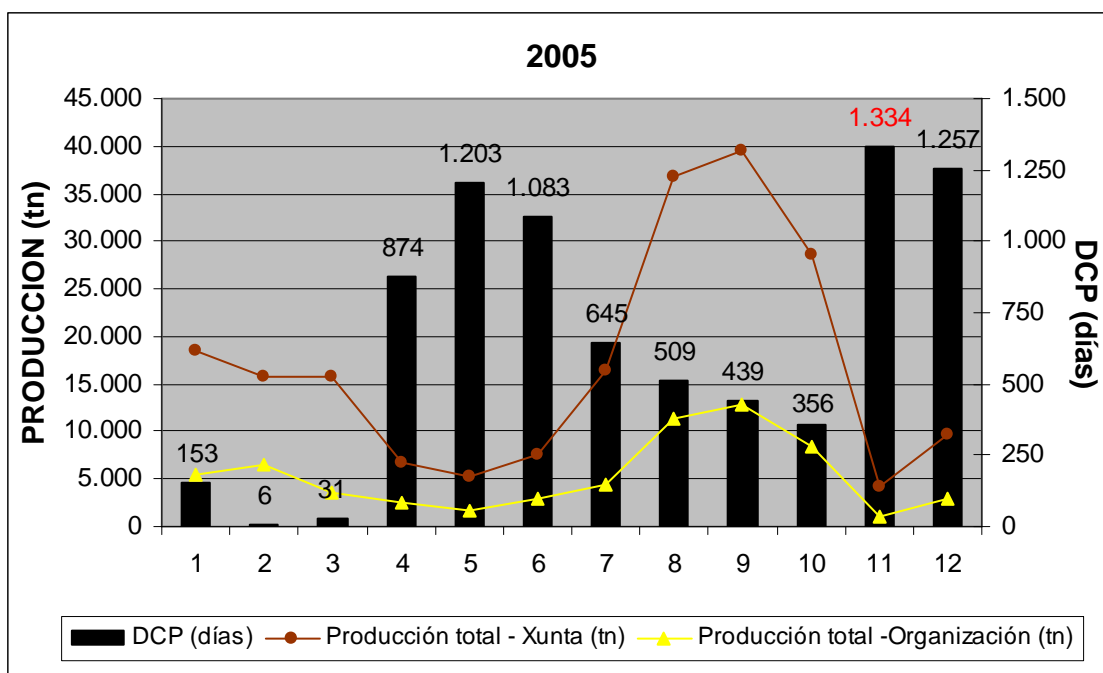




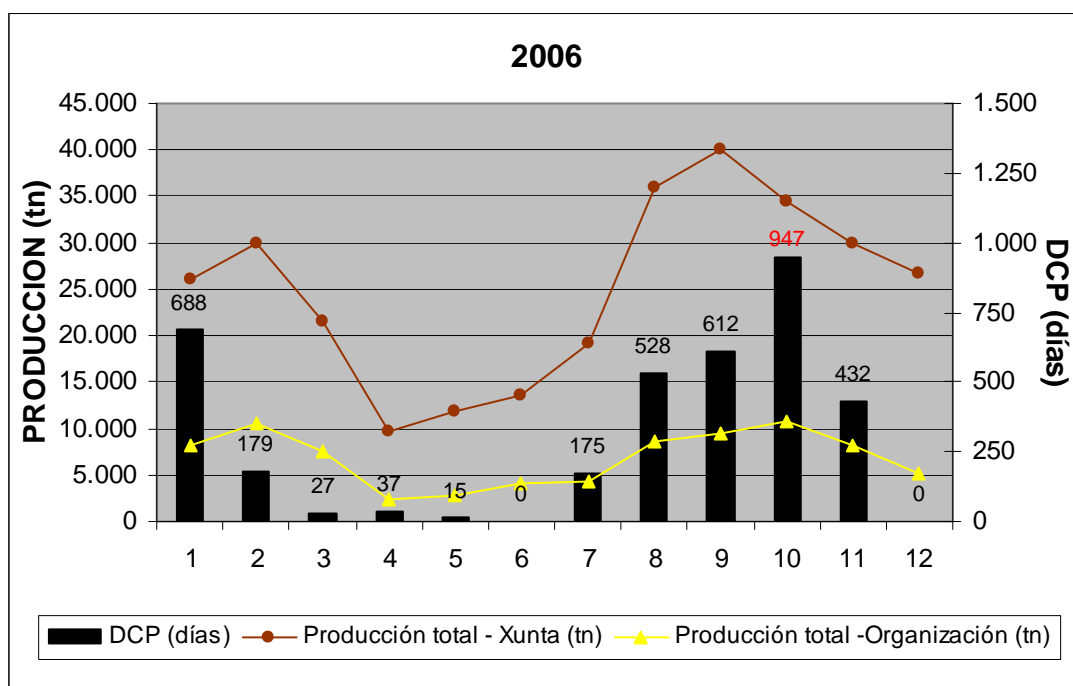
**Gráfico 32.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2003.



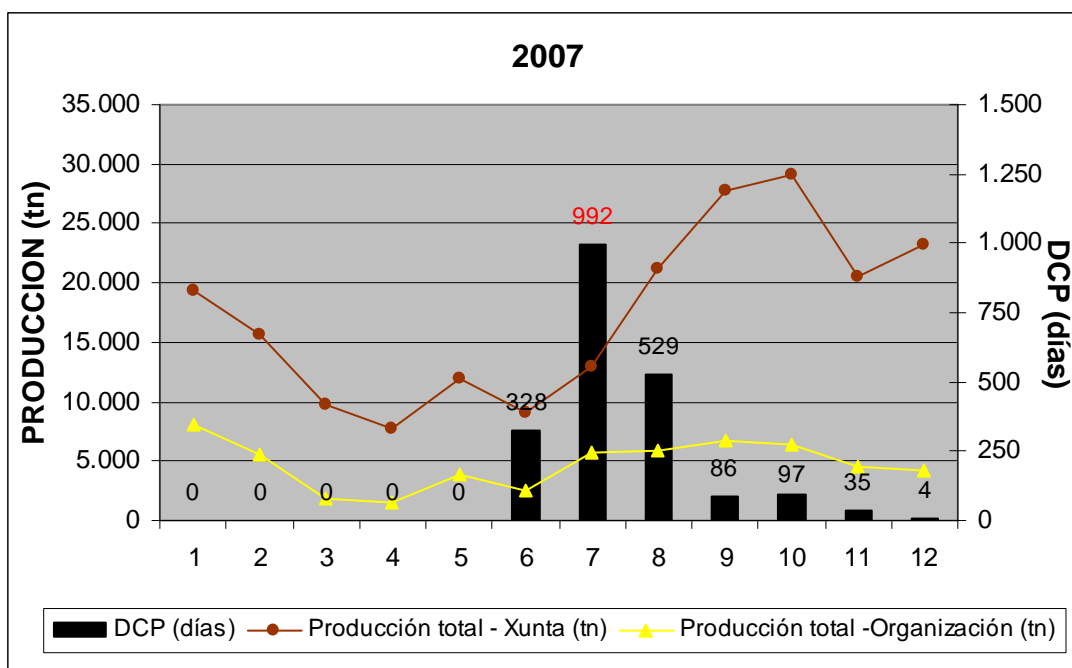
**Gráfico 33.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2004.



**Gráfico 34.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2005.



**Gráfico 35.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2006.



**Gráfico 36.-** Producción total mensual en Galicia y de la Organización frente a los valores mensuales de DCP en el año 2007.

A continuación desglosamos la producción mensual de la muestra según tipo de producto (fresco-fábrica) y la confrontamos, en los gráficos 37-44, con los valores mensuales de DCP.

Salvo en 2001 –uno de los años de menor incidencia de las toxinas- en el resto del periodo por lo menos un mes contabilizó más de 800 días de cierre.

Entre 2002 y 2006 estos meses funestos se observaron en el último cuarto del año.

En 2000 el mes de mayor incidencia de las “mareas rojas” se contabilizó en el primer semestre del año, en concreto fue mayo con 997 DCP.

Finalmente en 2007 julio con 992 DCP resultó el peor mes de incidencia de fitoplancton tóxico.

Dado que en el primer semestre del año es cuando se extrae menos volumen de mejillón, para ambos formatos de producto, es de suponer que las pérdidas tanto de producción como económicas asociadas a las toxinas en 2000 fueron menores que en años en los que los cierres masivos se produjeron a finales del año (Gráficos 37). Pese a todo, en mayo del 2000 se observa una bajada porcentual de la producción de mejillón respecto al mes anterior, de un 46% para el mejillón de fábrica y de un 50% para el mejillón fresco. En ese mes la organización dejó de producir-comercializar unas 1.400 toneladas de mejillón fresco y otro tanto de mejillón de fábrica.

Excepcionalmente, en 2001 (Gráfico 38) no se produjeron cierres mensuales acumulados de más de 800 días; además las condiciones oceanográficas fueron propicias para que el mejillón mostrara una buena condición a partir del mes de mayo, lo que ocasionó el adelanto del inicio de la campaña de fábrica; por último, en el mes de Navidad se comercializaron 7.000 toneladas largas de mejillón fresco, volumen máximo mensual del periodo. Por lo que podríamos hablar de un muy buen año de producción.

La producción de mejillón en 2002 (Gráfico 39) se vio gravemente afectada por dos hechos:

- el hundimiento del petrolero Prestige en noviembre que causó una acentuada caída de la demanda de mejillón fresco en Navidad;
- y la fuerte incidencia de la toxina en septiembre y octubre que frenaron considerablemente la extracción de mejillón tanto de fresco como de fábrica.

En el gráfico 39 podemos observar claramente el efecto negativo que sobre la producción tienen los cierres generalizados provocados por las toxinas. Así en septiembre con un DCP de 976 días se registraron, respecto al mes anterior, caídas de producción del 34% para el mejillón fresco (esto es, se produjeron unas 1.300 toneladas menos que el mes anterior). En octubre, cuando la incidencia de la toxina fue considerablemente mayor (DCP = 1.376), las pérdidas de producción respecto de agosto resultaron considerablemente más pronunciadas, de un 60% para el mejillón fresco (esto es, unas 2.300 toneladas menos) y de un 43% para el de fábrica (unas 3.300 toneladas menos).

Excepcionalmente este año el mejillón fresco tuvo el mejor inicio de campaña del período, con volúmenes de producción en enero y febrero de alrededor de 4.500 toneladas, debido a la buena campaña de mejillón destinado a Italia que se mantuvo hasta abril. Esto amortiguó en parte la reducción de producción de mejillón fresco sufrida entre septiembre y octubre.

En cambio, la disminución del volumen de mejillón de fábrica en 2002 no se vio compensada en este año, sino que provocó el retraso de la campaña de fábrica que fue arrastrada hacia el año siguiente. Por ello en enero de 2003 se comercializaron casi 11.108 toneladas de este formato de mejillón, más del triple que en el mismo mes de años anteriores.

En 2003 (Gráfico 40) el sector mitilicultor soportó un gran número de cierres asociados al afloramiento de microalgas tóxicas, como ya comentamos anteriormente, con cierres generalizados a partir de finales de octubre y todo noviembre y diciembre.

De hecho, estas intensas floraciones fitoplanctónicas se solaparon con la campaña de Navidad de fresco y cortaron la campaña de fábrica justo cuando el mejillón presentaba mejores rendimientos. Por ello en noviembre cayeron las ventas de fábrica drásticamente, pasando de las 17.190 toneladas

extraídas en septiembre a las 10.315 de octubre; y prácticamente no se comercializó este tipo de mejillón en noviembre y diciembre. No llegándose, sumando ambos meses, ni a las 1.000 toneladas, cuando en 2000, 2001 y 2002 se habían producido en esos mismos meses entre 24.000 y 15.000 toneladas. Así, por término medio, en 2003 se registraron caídas de producción de mejillón de fábrica de un 94% respecto de la media de los años anteriores.

En cuanto al mejillón fresco su campaña se vio intensamente condicionada por los cierres generalizados de las áreas de cultivo registrados sobre todo en noviembre y diciembre que ocasionaron la pérdida de las ventas de Navidad. A pesar de ello, y contrariamente a lo que cabría esperar, este no fue el peor año de producción total de mejillón fresco debido a que en agosto se inició anticipadamente la campaña de mejillón destinado a Italia, debido a las grandes mortalidades de mejillón registradas en ese país asociadas a valores muy elevados de temperatura del agua en ese mes. Esta campaña contabilizó volúmenes de extracción entre septiembre y octubre muy superiores a años anteriores, más de 11.000 toneladas frente a las cerca de 6.000 toneladas extraídas en ambos meses en el resto del período. Lo que enmascara en cierta medida el efecto negativo de las mareas rojas sobre la producción de fresco.

El año 2004 (Gráfico 41) pese a que acumuló cierres por toxinas cifrados en 4.860 días, fue un buen año -para la organización- en volumen de producción total, ya que este creció en más de 9.000 toneladas. Con todo, este marcado crecimiento de la producción no se vio traducido en un aumento similar en magnitud de la facturación ya que el crecimiento fue para la producción de mejillón de fábrica que es la que alcanza un precio menor.

Los valores mensuales de DCP muestran que, contrariamente a lo sucedido en años anteriores, los cierres se repartieron más a lo largo del año por lo que no se produjo ningún estrangulamiento claro de la producción-oferta, de manera que sólo en noviembre se superaron ligeramente los 800 días de cierre. Esto coincide con el final de la campaña de fábrica y no se prolonga hasta diciembre lo que permite desarrollar más o menos normalmente la campaña de Navidad para el fresco. Por lo que no parece que este año las "mareas rojas" causaran un fuerte impacto negativo sobre la producción debido a que (y contrariamente a lo observado en años anteriores de menor incidencia total de las toxinas) en ningún mes de 2004 estuvieron cerradas más del 76% del total de bateas de Galicia.

Otro factor que ocasionó la fuerte subida de la producción de mejillón de fábrica registrada en 2004 fueron sin duda los episodios tóxicos ocurridos a finales del año anterior, que provocaron que de enero a marzo parte de los volúmenes comercializados de este formato de mejillón fueran de la producción atrasada del año anterior, esto es nuevamente se retrasó la campaña de fábrica de un año para otro.

Dos mil cinco (Gráfico 42), fue sin duda el peor año de "mareas rojas" ya que se llegó en el cómputo anual a los 7.882 DCP. En este año la producción anual de la organización se desplomó, sumando una caída de un 50% para el mejillón fresco y de un 42% para el mejillón de fábrica, ambas respecto al año anterior. Ello se tradujo en una importante reducción de los niveles de facturación gestionados por la organización.

En cinco meses se superaron los 800 días de cierre: abril, mayo, junio, noviembre y diciembre, con dos fuertes episodios de toxicidad DSP, uno en primavera y otro a finales de año solapado con un excepcional episodio PSP.

Fue prácticamente imposible hacer frente a la campaña de Navidad del fresco, y la campaña de fábrica solo pudo ser atendida entre agosto y octubre, por lo que en ambos destinos comerciales las toxinas condicionaron las ventas.

En 2005 la organización produjo-comercializó apenas 65.000 toneladas totales de mejillón, frente a las 115.294 del año anterior, lo que significa una pérdida de la capacidad teórica de producción de un 46%.

Durante todo el año -especialmente desde el inicio de las mareas rojas en el mes de abril- los niveles de ventas de producto fresco fueron especialmente bajos, siempre por debajo de las 2.000 toneladas. En diciembre apenas se vendieron 2.700 toneladas de mejillón fresco, cantidad muy inferior a la alcanzada por ejemplo en 2005 con una producción comercializada en Navidad de 6.300 toneladas.

El volumen de mejillón de industria comercializado en este año también cayó, pasando de las más de 78.600 toneladas de 2004 a las apenas 45.500 de este año. Esto se debe a que la campaña de fábrica se vio cortada anticipadamente a finales de octubre, lo que supuso la pérdida de los mejores meses para las ventas.

A todo esto debemos unir que, por causa de los cierres generalizados, parte del mejillón tuvo salida fuera de temporada cuando su calidad no era la adecuada y por tanto su precio tampoco resultó óptimo.

Los intensos episodios de mareas rojas de finales de 2005 tuvieron continuidad en los primeros meses de 2006 (Gráfico 43). Pese a ello este fue un año benigno de incidencia de fitoplanctón tóxico, ya que para el global anual se sumaron 3.640 DCP frente a los 7.890 de 2005.

La campaña de fábrica del año anterior se trasladó en parte para este año por lo que entre enero y marzo la organización produjo-comercializó 21.000 toneladas largas de mejillón destinado a fábrica. No obstante en estos meses la condición del producto no es la idónea por lo que posiblemente los resultados económicos de esta producción no fueron los óptimos.

Por otro lado, aunque en octubre se sumaron 947 DCP la producción no descendió, como cabría, debido a que los cierres no llegaron a afectar a un número suficiente de bateas, y siempre permanecieron abiertas más del 34% de las bateas de mejillón gallegas.

Las mareas rojas permitieron este año que la campaña de fábrica y la de fresco se desarrollaran sin incidencias. Pese a ello la organización no alcanzó los resultados de otros años en la campaña de Navidad debido a que perdió parte de su capacidad productiva de este tipo de mejillón cuando un número importante de bateas se dieron de baja de la organización.

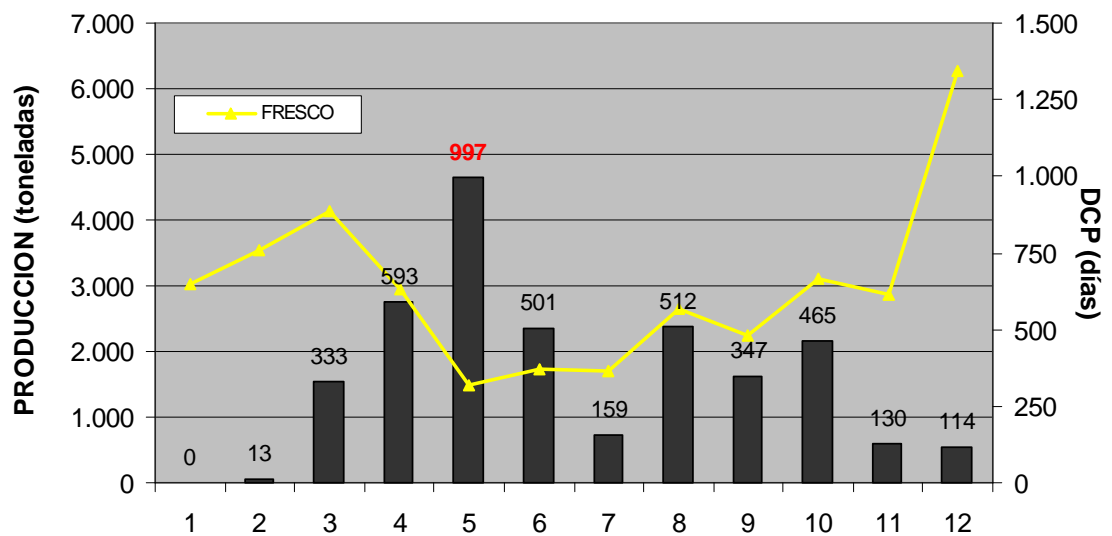
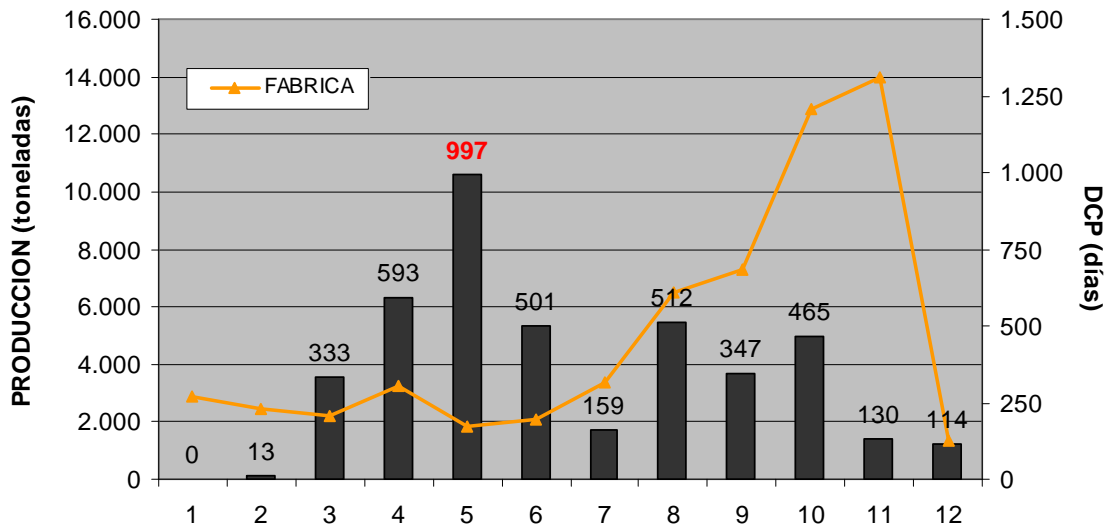
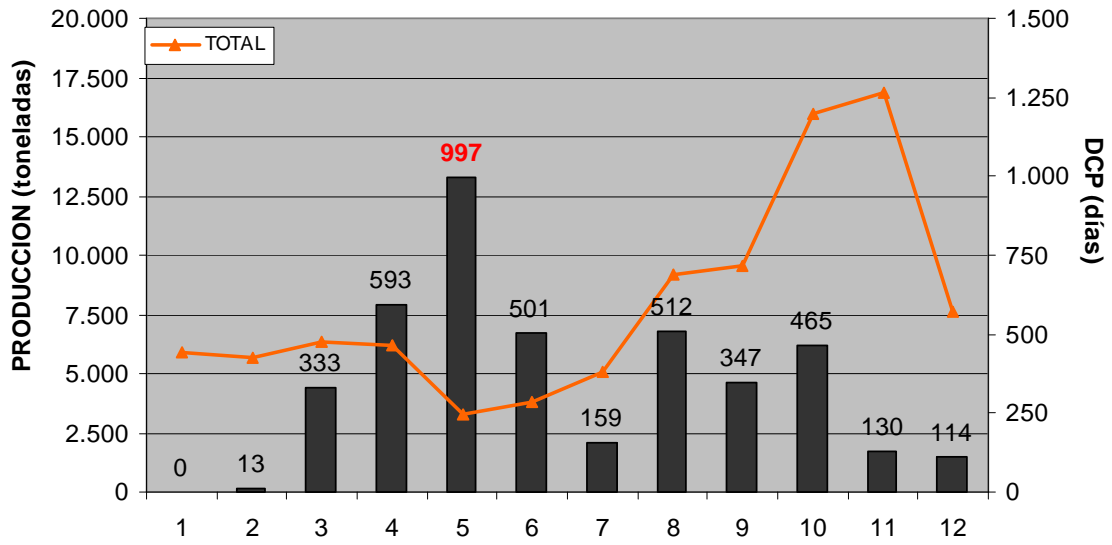
Indicar que aunque la producción anual de la organización en 2006 fue significativamente menor que en años precedentes, las cifras de producción por batea se situaron en torno a la media de años anteriores.

Por último, 2007 (Gráfico 44) fue el año de menor incidencia de fitoplancton tóxico en las rías. El único episodio DSP se concentró en el verano, especialmente en julio con 992 DCP. Pero como prácticamente durante todo ese mes se mantuvieron abiertas más del 30% de las bateas, la producción en julio no disminuyó –como cabría esperar- sino que aumento en relación a junio (en 270 toneladas para el fresco y en casi 3.000 para el mejillón de fábrica).

En general la baja incidencia de las mareas rojas en este año permitió que la producción de fresco mantuviese un ritmo normal de comercialización, campaña de Navidad incluida.

Por su parte el comportamiento de la producción destinada a fábrica fue bastante anómalo. En los primeros meses del año se registró un importante volumen de ventas de este producto –unas 11.000 toneladas entre enero y febrero- y no se registraron los clásicos picos de los meses de verano –campaña de fábrica- a pesar de no tener problemas de suministro derivados de los cierres por toxinas. Esto último se explicaría, como ya comentamos anteriormente, por la caída en la demanda de mejillón por parte de la industria conservera, que como resultado de su estrategia de internacionalización pasan a elaborar parte de su producción de conserva de mejillón en sus fábricas del extranjero con producto no gallego. Cuestión esta que debemos confirmar en años venideros.

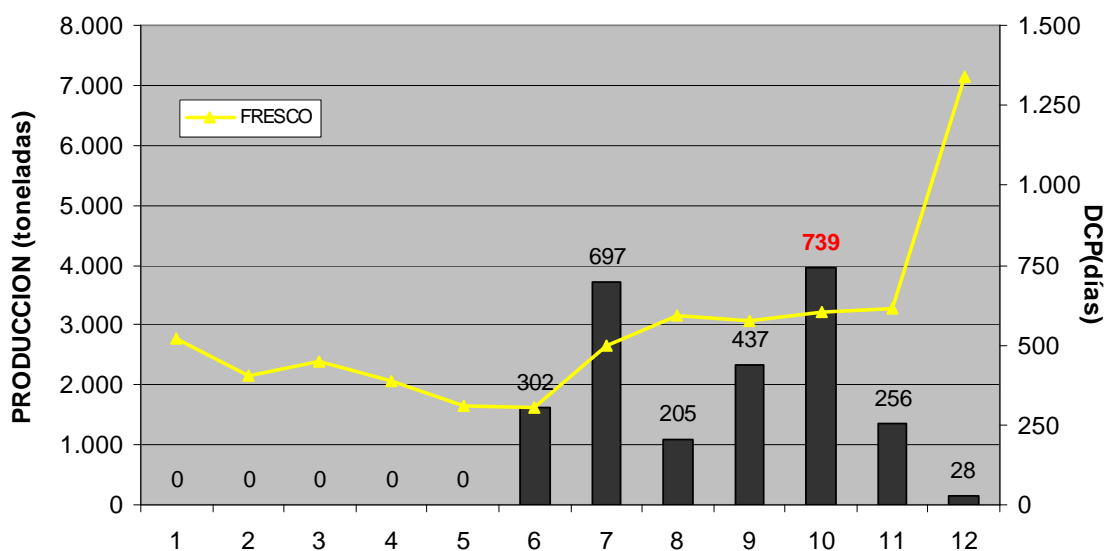
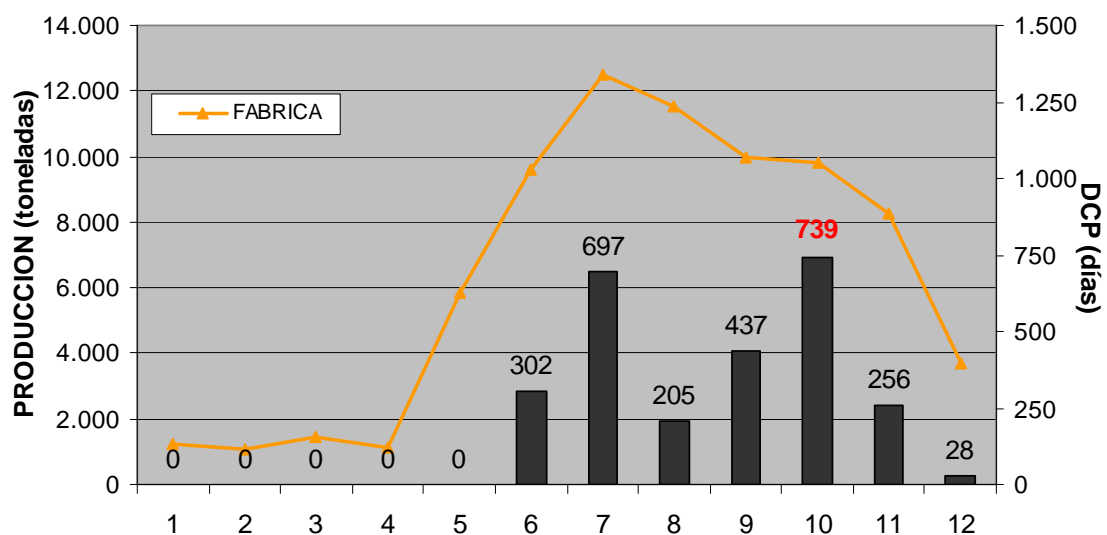
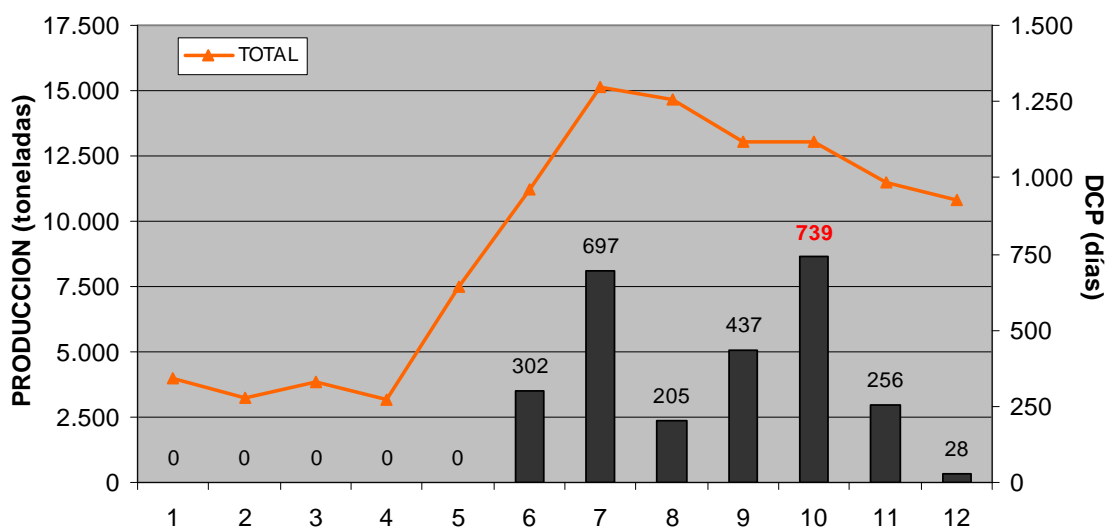
2000



**Gráfico 37.-** Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2000.



### 2001



**Gráfico 38.-** Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2001.

2002

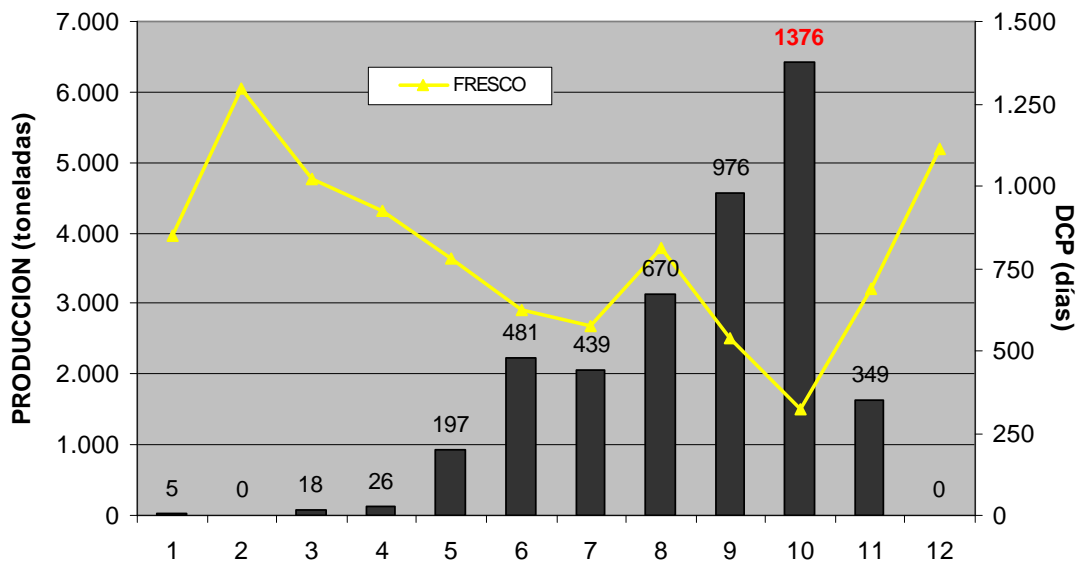
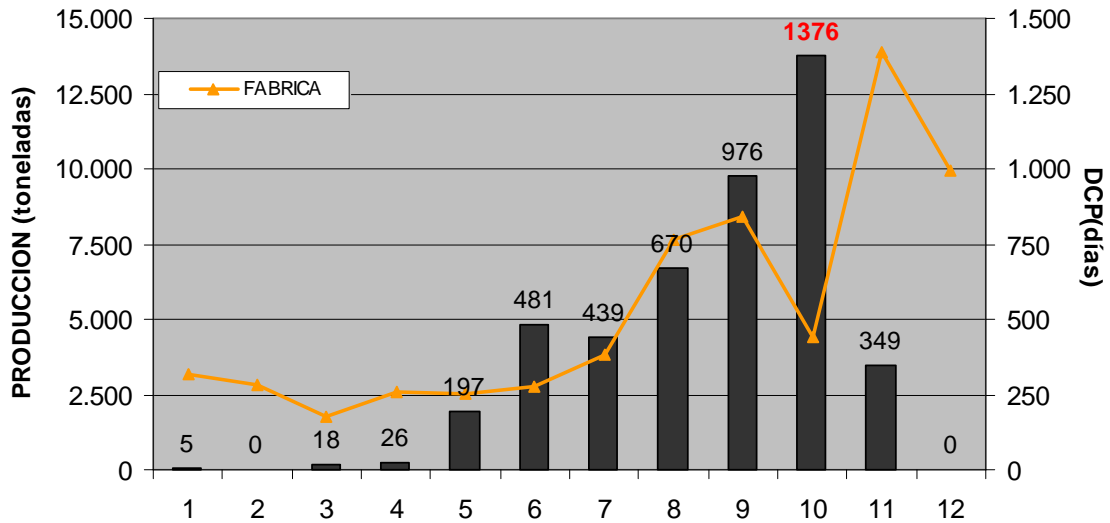
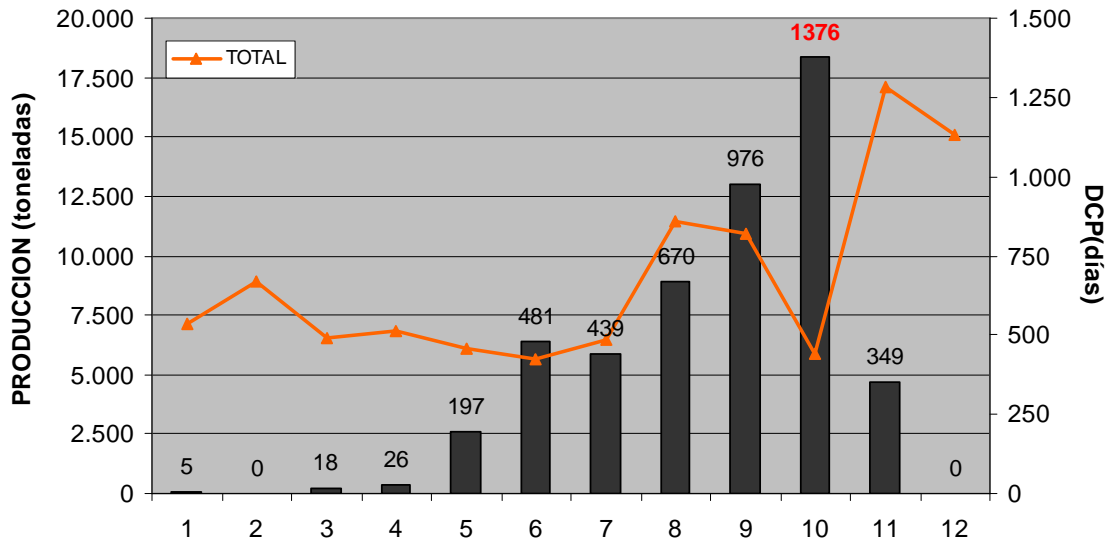
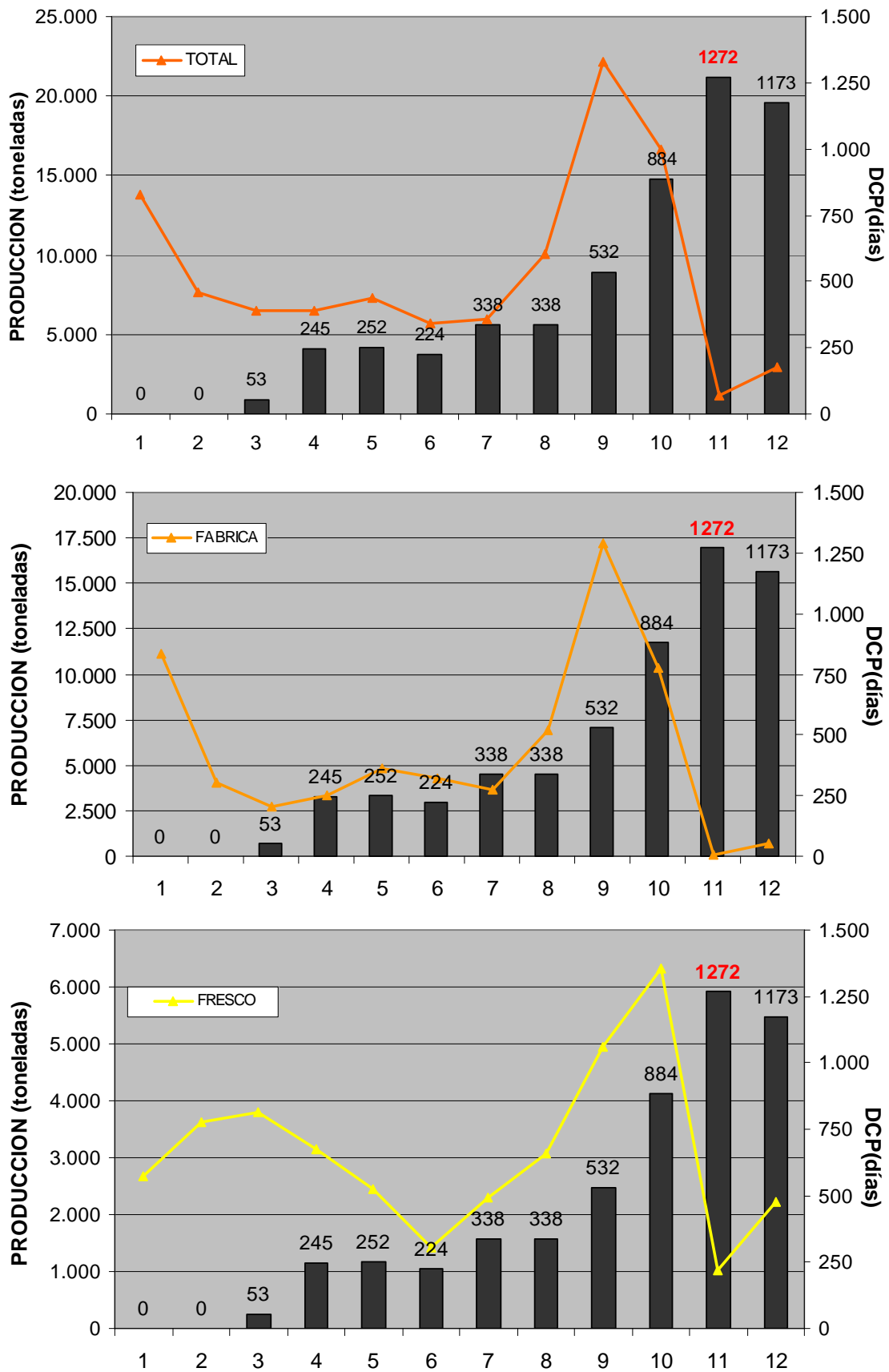


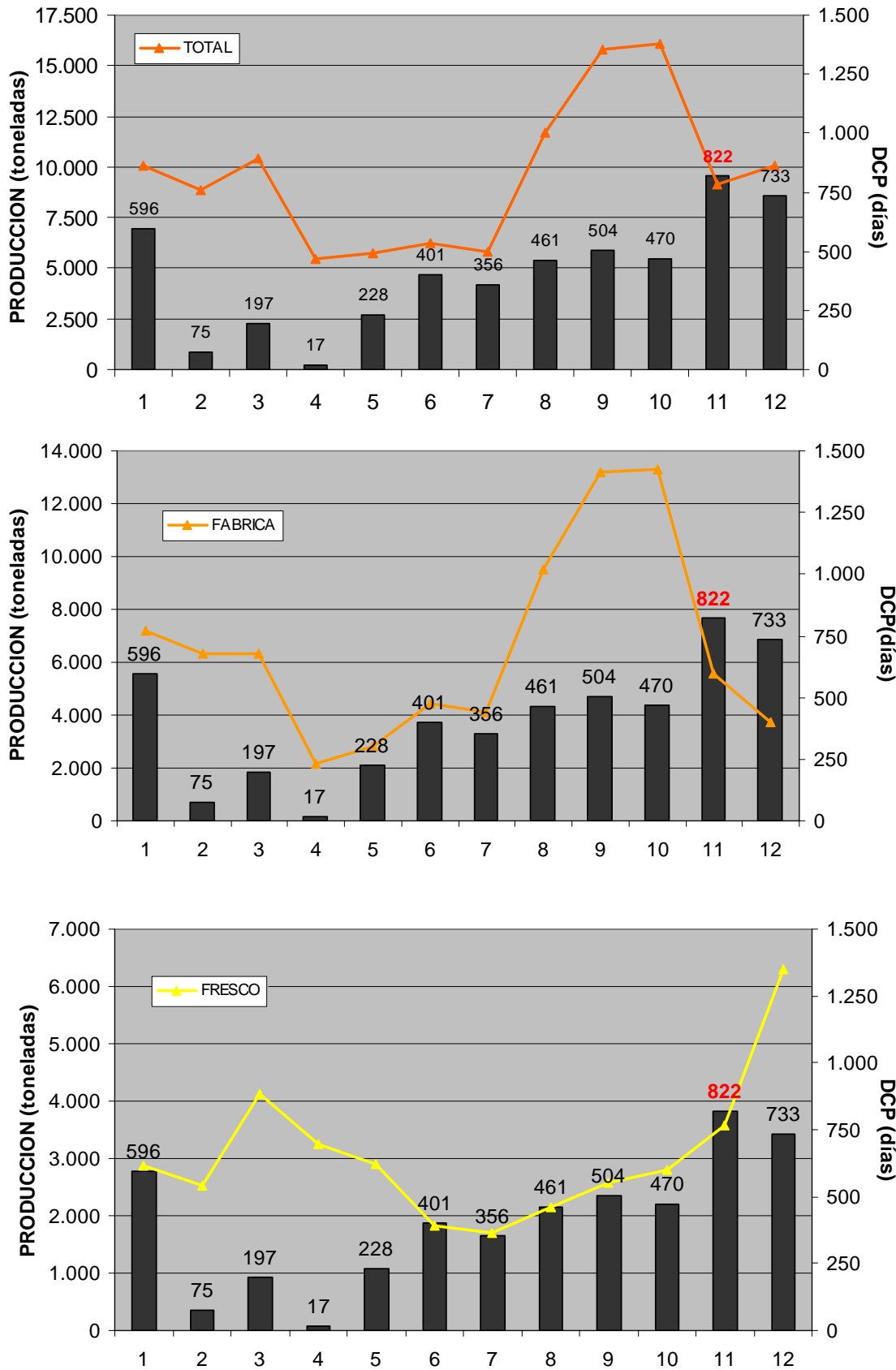
Gráfico 39.- Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2002.

2003



**Gráfico 40.-** Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2003.

2004



**Gráfico 41.-** Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2004.

2005

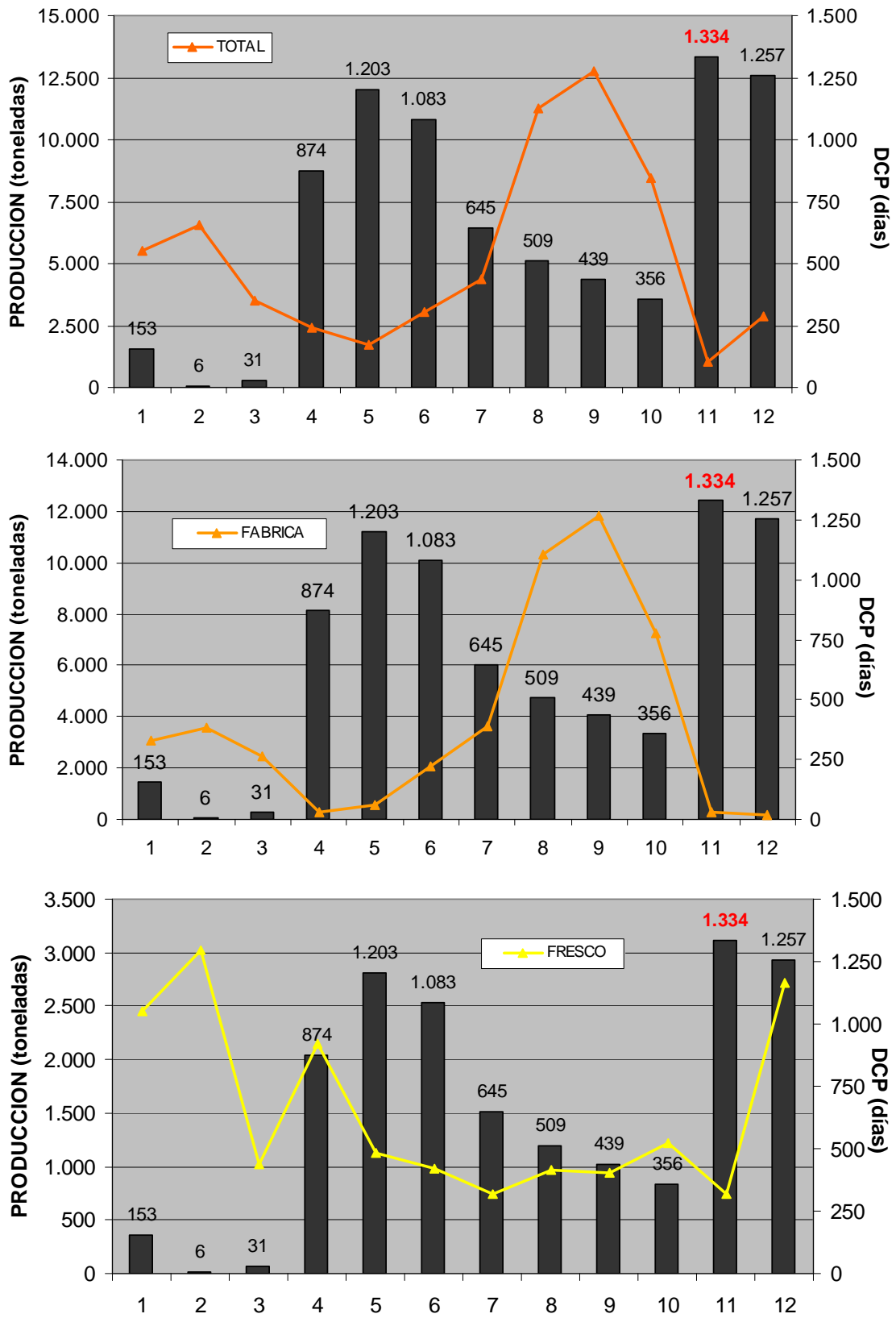
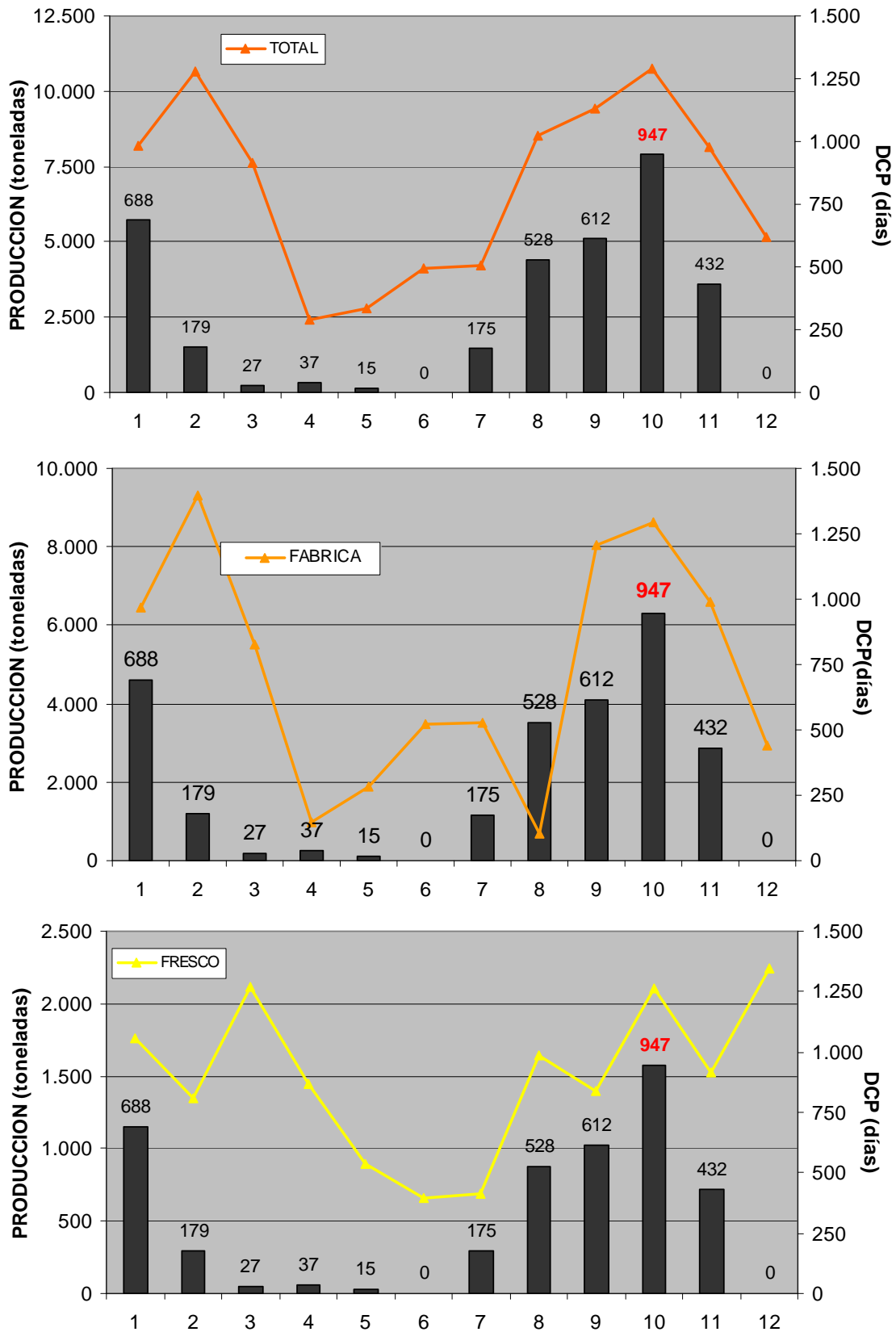


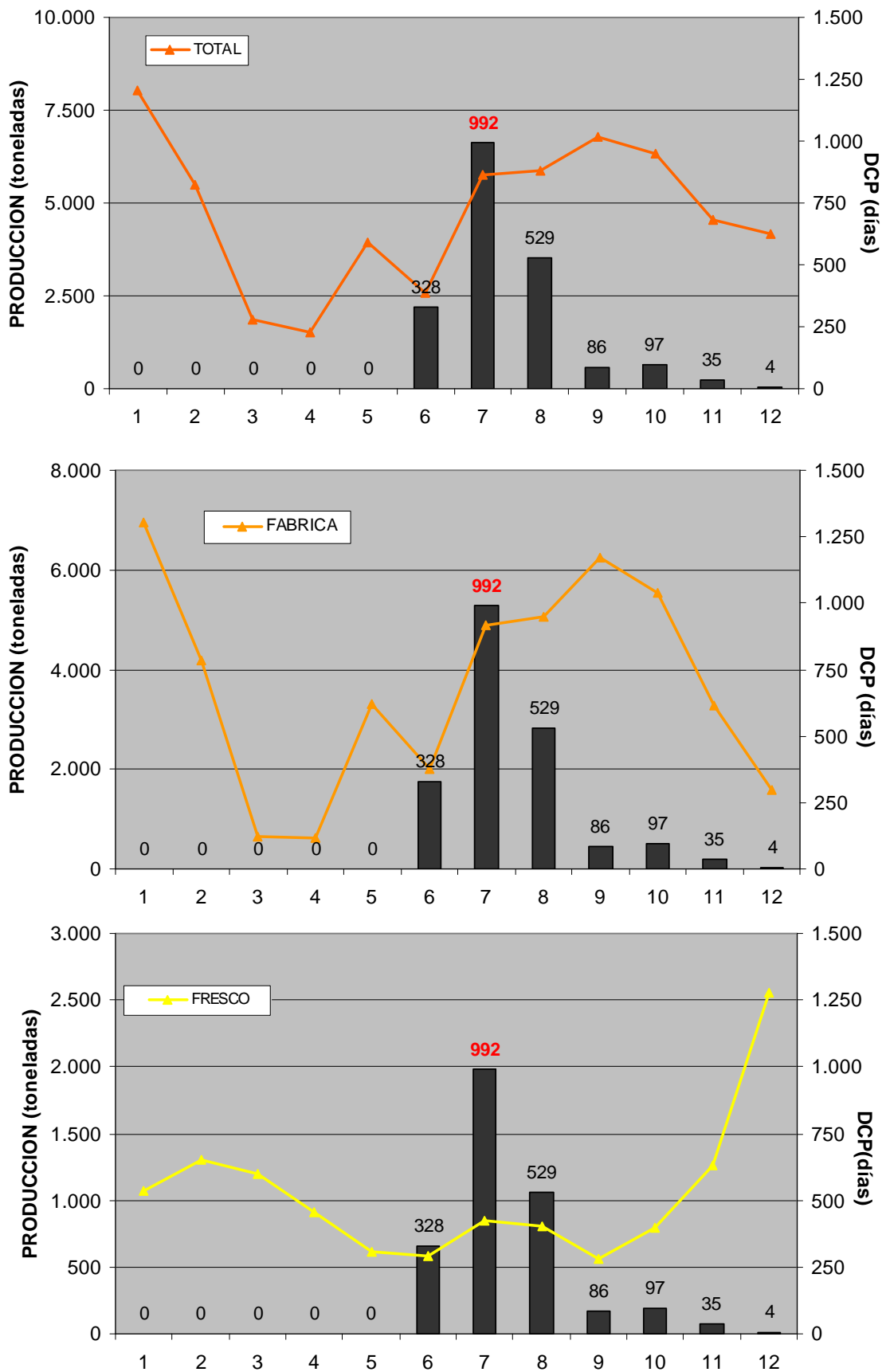
Gráfico 42.- Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2005.

2006



**Gráfico 43.-** Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2006.

2007



**Gráfico 44.-** Producción mensual (total, de fábrica y de fresco) de la muestra frente a los valores mensuales de DCP en el año 2007.

## **CUANTIFICACION DEL IMPACTO GEOGRÁFICO DE LAS VEDAS.**

La variable DCP -días de cierre por polígono- definida en la sección *Vedas: presencia geográfica y temporal* es una medida que hace referencia unívoca a cada polígono respecto del tiempo, y mide hasta cierto punto la tensión en la que vive cada uno de los titulares de bateas de ese polígono. Para la empresa individual es un indicador de la incertidumbre de los ingresos para el sustento familiar, y si es una sociedad puede ser la antesala de una situación de tensión de tesorería que requerirá medidas paliativas de carácter económico-mercantil.

Así mismo, esta variable nos valió para determinar aquellas áreas geográficas que padecieron con mayor amplitud las vedas, y aquellas otras que son las zonas de reserva de producto, ya que tienen mucha menor limitación comercial por cierre administrativo.

A nivel individualizado el indicador es ciertamente orientativo, pero desde el punto de vista de gestión de sector en conjunto, es preciso ampliar el enfoque a fin de buscar una unidad de medida de ámbito global que relacione batea (polígono, zona o ría) con respecto del conjunto del sector, y de carácter general respecto de toda la geografía gallega, debemos ser conscientes de que los días de cierre por polígono como unidad de medida utilizada hasta ahora, no es una medida homogénea, ya que no considera aspectos como:

- la diferente cantidad de bateas de cada polígono, esto es diferente capacidad productiva de cada polígono.
- la afectación de la fase del ciclo de cultivo (recolección de la mejilla, desdoble, cosecha), y más concretamente el período de mayor auge comercial, en el que la incidencia de los cierres administrativos pueden ser más impactantes.
- la caracterización temporal del cierre (un solo cierre o varios al año).
- la especialización en un tipo de producto (fresco especial, fresco normal, industria), cuestión que lleva asociada diferencias en facturación.
- la extensión geográfica de las vedas (número de polígonos-bateas que permanecen cerrados simultáneamente).
- etc.

Bajo estas consideraciones, y siendo conocedores de la carencia de datos que permitirían superar las limitaciones de esta unidad de medida, podemos definir un índice que nos permita afinar un poco en el análisis de la intensidad del



impacto de las vedas sobre el sector mitilicultor y por consiguiente sobre los siguientes agentes del cluster.

A tal fin pasamos a incluir en nuestro análisis los dos primeros aspectos anteriormente citados (la diferente capacidad productiva de los polígonos y la afectación de la fase del ciclo productivo).

Podemos aceptar que la **Capacidad de Producción-Oferta – CPO-** de un polígono viene dada por el número de bateas que tal polígono posea.

Evidentemente esta capacidad estaría muy mediatizada por la situación del polígono dentro de cada ría, el tipo de mejillón que mayoritariamente produzcan dichas bateas, de las prácticas de cultivo habituales en la zona, etc., pero carentes de este detalle de información, nos tenemos que conformar con ajustar el índice respecto del número de bateas que posea cada polígono.

En este sentido, consideramos que la **CPO** de un polígono (zona o ría) viene dada por la posibilidad de que todas sus bateas puedan vender los 365 días del año (esto es, número de bateas del polígono por el total de días en el año).

Por otro lado, de lo detallado en el apartado *Distribución temporal de la producción*, se constata que la comercialización de los volúmenes más significativos de mejillón se registra en el segundo semestre del año. Un cierre será menos agresivo si se da en el primer semestre del año, porque (al margen de la consideración de la calidad del producto para acceder al mercado de consumo) las ventas son más reducidas ya que la demanda es menor, y en consecuencia, los perjuicios causados a la comercialización serán menores.

Así mismo, cuando el furor comercial es más álgido, en el segundo semestre, un cierre administrativo tendrá unas consecuencias comercialmente más perniciosas.

Partiendo de este postulado, trataremos de establecer una medida de cual es la ponderación del impacto de una veda, según el cierre se produzca en el primer o en el segundo semestre del año.

Para ponderar las vedas respecto del volumen comercializado, tomamos por separado las ventas mensuales producidas en el primer y en el segundo semestre de cada uno de los ocho años estudiados, prescindiendo de aquellos meses que mostraron una desviación excepcional (por impactos de causa exógena: temporales, cierres, el accidente del petrolero Prestige, etc.) y obtenemos una media por semestre.

El cociente entre ambas medias nos da que por cada kilogramo vendido entre enero y junio, se venden 2,5 kg entre julio y diciembre. Esto es, en los primeros

seis meses del año se comercializa el 30% de la producción total de mejillón mientras que el 70% restante se comercializa entre julio y diciembre.

Este pues puede ser un **Coefficiente de ponderación semestral** que aporte mayor sensibilidad a los datos de Días de Cierre por Polígono detallados en la tabla 6.

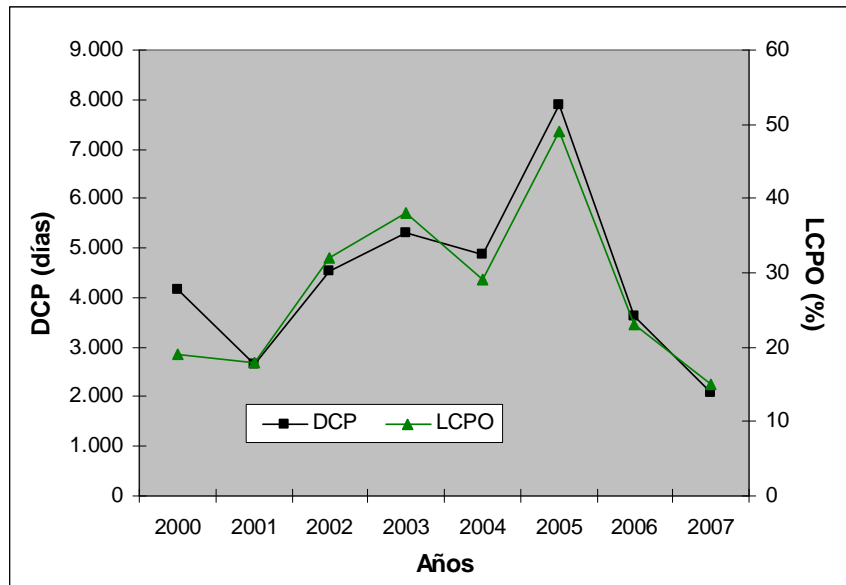
Operando con las variables anteriores obtenemos una medida más ajustada de la **Limitación de la capacidad de producción-oferta -LCPO-** producida por la incidencia de fitoplancton tóxico, en la que se pondera el diferente peso productivo de cada polígono (fuerza de producción entendida como número de bateas) y el componente estacional de la producción (segregación semestral de la demanda).

La limitación de la capacidad de producción-oferta de un polígono (zona o ría) viene dada por la cantidad de días que la totalidad de sus bateas no pudieron disponer del producto libremente (esto es, número de bateas del polígono por días cerrados) respecto de la CPO teórica anual para cada polígono, previamente ponderadas ambas variables mediante el cociente de ponderación semestral.

El cociente entre ambas magnitudes nos da un índice de la limitación temporal de cada polígono en cada uno de los años estudiados similar a DCP; pero además nos va a permitir una medida comparativa homogeneizada mediante la capacidad de producción de cada polígono (zona o ría) y asimismo ponderada respecto del semestre en el que se registran las vedas administrativas (Tabla 8).

Si para toda Galicia cuantificamos la malignidad del año, referida a "mareas rojas", como DPP y como LCPO, observamos que ambas variables no tienen un comportamiento exactamente paralelo (Gráfico 45).

Si definimos un gradiente de malignidad en la incidencia anual de las toxinas que va desde el excelente hasta el nefasto, nos encontramos que medidos como LCPO 2000 y 2001 se pueden calificar como años excelentes, pero en cambio medidos como DPP sólo 2001 sería un año excelente. Esta discrepancia se debe a que aunque 2000 acumuló un número considerable de cierres, estos se produjeron sobre todo en el primer semestre del año, cuando se comercializa un menor volumen de mejillón. Lo que nos indica que el índice LCPO nos permite clasificar de manera más ajustada los años según la malignidad de los episodios tóxicos.



**Gráfico 45.-** Representación gráfica de las variables anuales Días de cierre por polígono -DCP- y Limitación de la Capacidad Producción-Oferta -LCPO- anual para el conjunto de Galicia en los años 2000 a 2007.

**Tabla 8.-** Porcentaje de la Limitación Anual de la Capacidad de Producción-Oferta entre 2000 y 2007.

PÓLIGONOS	PORCENTAJE DE LIMITACIÓN ANUAL DE LA CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN-OFFERTA							
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Cangas F	58	51	57	76	86	83	57	30
Cangas G	51	44	60	75	86	78	53	30
Cangas H	42	39	57	75	83	77	47	33
Cangas C	15	24	30	41	44	55	27	13
Cangas D	11	18	33	42	53	53	25	16
Cangas E	7	16	23	35	27	35	10	6
Redondela A	5	12	24	32	12	18	6	2
Redondela B-G	5	4	23	15	2	10	2	0
Redondela C-F	5	4	19	15	0	10	0	0
Redondela D	5	5	24	20	5	10	0	0
Redondela E	5	9	22	32	12	26	5	0
Vigo A	23	15	22	38	38	39	12	6
<b>RIA VIGO</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>37</b>	<b>47</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>27</b>	<b>15</b>
Cangas A	54	42	57	76	88	81	55	27
Cangas B	71	49	59	78	44	84	57	30
Bueu B	82	45	57	85	90	81	54	16
Bueu A2	70	48	57	84	89	79	57	31
Bueu A1	82	54	56	85	88	84	55	33
Portonovo A	22	35	46	67	47	55	32	22
Portonovo B	34	35	50	65	70	63	42	27
Portonovo C	32	34	46	64	74	71	43	26
<b>RIA PONTEVEDRA</b>	<b>56</b>	<b>43</b>	<b>54</b>	<b>76</b>	<b>74</b>	<b>75</b>	<b>49</b>	<b>27</b>
Ribeira B	7	16	23	31	24	43	21	17
Ribeira C	7	21	26	32	24	44	19	19
A Pobra H	5	10	18	27	16	41	18	17
A Pobra G	3	1	15	8	0	26	2	5
A Pobra A	3	1	11	9	0	15	0	7
A Pobra B	4	1	10	16	0	36	5	7
A Pobra C	4	1	15	19	0	34	2	8
A Pobra D	5	3	21	25	9	40	2	8
A Pobra E	3	3	18	27	6	32	4	2
Vilagarcía A	1	1	18	18	4	30	1	0
Vilagarcía B	6	2	23	22	1	36	2	2
Cambados A2	0	1	17	3	0	24	1	0
Cambados A1	10	5	24	27	11	42	3	8
Cambados B	7	9	24	33	19	44	14	12
Cambados C1 N	9	16	32	38	24	46	23	19
Cambados C2 S	12	19	28	43	29	50	22	17
Cambados D	2	1	24	18	0	36	0	15
O Grove A	3	6	30	20	5	40	4	16
O Grove C1	12	20	41	43	53	49	37	20
O Grove C2	40	39	52	53	58	76	54	24
O Grove C3	10	18	40	38	38	50	35	22
O Grove C4	40	38	47	54	58	73	52	23
<b>RIA AROUSA</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>26</b>	<b>30</b>	<b>18</b>	<b>43</b>	<b>15</b>	<b>11</b>
Muros B	55	48	53	53	51	72	55	21
Muros A	44	31	44	48	22	63	47	19
Noia A	32	20	44	38	19	50	47	19
<b>RIA MUROS – NOIA</b>	<b>50</b>	<b>41</b>	<b>51</b>	<b>50</b>	<b>42</b>	<b>67</b>	<b>52</b>	<b>20</b>
Sada A	31	36	45	30	24	63	51	33
Sada B	19	20	37	22	9	48	42	25
<b>RIA ARES – SADA</b>	<b>28</b>	<b>32</b>	<b>43</b>	<b>28</b>	<b>20</b>	<b>60</b>	<b>49</b>	<b>31</b>
<b>GALICIA</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	<b>32</b>	<b>38</b>	<b>29</b>	<b>49</b>	<b>23</b>	<b>15</b>

## 7. CASUÍSTICA DE LA AFECTACIÓN DE LAS VEDAS.

En este apartado final trataremos, a modo de resumen trataremos de describir la casuística de la afectación de los episodios tóxicos sobre el sector mitilicultor gallego y sobre el resto de los agentes que conforman el cluster del mejillón de Galicia definiendo las dos situaciones más comunes.

Los casos que se pueden dar como consecuencia de la presencia de biotoxinas podemos clasificarlos en función de que el espacio afectado sea reducido o amplio (hasta la totalidad de los polígonos), y conjugar lo mismo con el tiempo, en el sentido de que los períodos de veda sean más o menos largos.

Su análisis se deberá concretar desde dos puntos de vista, desde el mercado, a través de la demanda formulada por clientes y consumidores, y desde la oferta, según las implicaciones que las vedas generen en el sector.

El caso más pernicioso de la presencia de biotoxinas se produce cuando hay un **cierre generalizado de polígonos**, ya sea un período corto de tiempo, o peor aún si es prolongado, de manera que ocurre un estrangulamiento de la oferta dejando desatendida a la demanda.

En esta situación el mercado -a veces cómodo con el servicio habitual- busca. Si esa búsqueda obtiene nuevas fuentes de abastecimiento se produce una sustitución del producto en los puntos de venta, y si esa experiencia comercial y de consumo no resulta especialmente negativa, se produce un debilitamiento en la relación de los clientes y de los consumidores con los valores interiorizados de nuestro mejillón (garantía, confianza,...).

El factor esencial para fidelizar es que clientes y consumidores tengan reticencia a probar otro producto competidor, y aquí se desvanece.

Además, los clientes asociarán a esa nueva fuente un elemento positivo con el que estarán en deuda emocional: cuando mi abastecedor habitual me falló, esta nueva fuente, me sacó de un problema. Situación que la competencia estará gustosa de explotar, maximizar y satisfacer.

Esta situación supondrá una dificultad añadida a la hora de recuperar el mercado perdido.

Evidentemente un cierre de estas características afecta a todos los productores que, primero, no pueden ofertar su producto y, segundo, tendrán que sacrificar recursos para hacer una remontada de su posicionamiento en el mercado.

Cuando el cierre por biotoxinas **no afecta a la totalidad de las áreas**, esto es, cierran zonas estando otras abiertas, en términos generales se mantendrá la continuidad del suministro al mercado.

Esta situación tiene un matiz en cuanto los cierres persisten en el tiempo, ya que como hemos visto la presencia de la toxina tiene un componente geográfico específico: los polígonos exteriores de las rías son los primeros en estar afectados y los últimos en verse libres de las toxinas, y en consecuencia, los que más tiempo permanecen cerrados. Esta circunstancia tiene una repercusión comercial ya que los polígonos exteriores son los que en términos generales producen mejillón fresco del tipo especial, de mayor tamaño, y este es uno de los elementos diferenciadores de la oferta gallega de mejillón, de tal manera que existen mercados geográficos que demandan específicamente este tipo de mejillón, con lo cual, en caso de imposibilidad de oferta, los clientes demandantes experimentan la sensación negativa de desabastecimiento y la necesidad de tener que abastecerse de otro mejillón, aunque gallego, menos deseado.

En el caso de oferta para la industria procesadora y transformadora sucede algo similar ya que hay empresas con clara vocación hacia la elaboración de productos a base de viandas grandes -mejillón grande- y estarán afectadas en la misma medida.

Hay que señalar que cuando se realiza un pedido, en el caso de fresco el producto llega al puerto seleccionado, y el tamaño de las piezas (número de piezas en un quilo) guardan homogeneidad al estar dentro de un rango establecido, mientras que en el caso de los pedidos de industria, el mejillón llega a granel, en barcadas de 12 a 20 mil quilos aproximadamente, y la caracterización del mismo se realiza mediante muestreo del que se obtendrá la media, si bien conllevará la correspondiente desviación estándar.

Evidentemente el carácter perecedero de la demanda del mejillón es una debilidad en el fresco, pero no es así en el caso del mejillón de fábrica, pues esta aunque busca el momento en el que el mejillón está en su óptimo de condición, puede manejar el momento de su abastecimiento ya que su producto final permite el almacenamiento, y en el caso de la conserva incluso es recomendable su almacenamiento desde el punto de vista organoléptico, pues el producto final mejora con el paso de un tiempo prudencial.

Para el sector productor, cualquier cierre es negativo, pero lógicamente son más perniciosos los de períodos largos, ya que limitan los ingresos pudiendo generar tensiones de tesorería para hacer frente a las deudas.

Por otra parte, al no poder vaciar de mejillón la batea mediante la venta del producto comercial, se produce un estancamiento del ciclo productivo por falta de espacio para el desdoble y en su caso para la mejilla. Además, el ciclo

natural tiende a la maduración del producto, y con ello a la posibilidad de desprendimientos, que serán más cuantiosos a medida que nos aproximemos a la época de los temporales.

Todas estas circunstancias propician que tras un período largo de cierre se generalice la percepción de necesidad de vender rápidamente la cosecha, lo que lleva normalmente a situaciones de sobreoferta por falta de mecanismos sectoriales de regulación, generando bajadas de precios y constituyéndose, en ocasiones, en uno de los principales desencadenantes de crisis en el sector productor.