

**JACUMAR**

**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

**Proyecto coordinado, 2003-2005**

**CULTIVO Y GESTIÓN DE  
SOLÉNIDOS**

**Informe final  
Dic. 2005**

**INFORME FINAL PLAN NACIONAL JACUMAR DE  
CULTIVO Y GESTIÓN DE SOLÉNIDOS.**

**COORDINACIÓN: Galicia**

**COMUNIDADES PARTICIPANTES:**

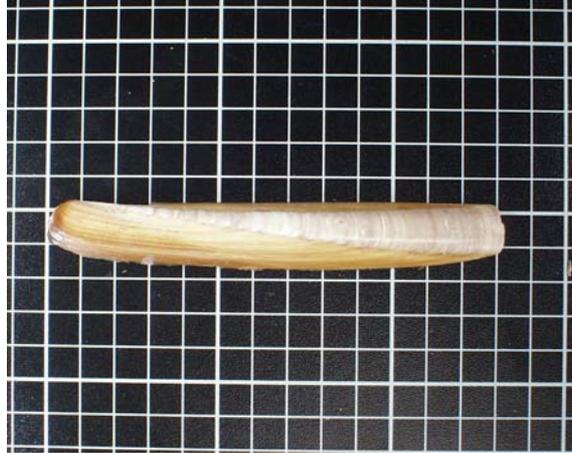
**Galicia  
Asturias  
Cantabria  
Andalucía**

**ÍNDICE**

	<b>página</b>
<b>❖ Línea I: Reproducción</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto I: Galicia</b>	<b>4</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto II: Asturias</b>	<b>13</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto III: Andalucía</b>	<b>21</b>
<b>❖ Línea II: Patología</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto I: Galicia</b>	<b>26</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto II: Asturias</b>	<b>29</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto III: Cantabria</b>	<b>31</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto IV: Andalucía</b>	<b>37</b>
<b>❖ Línea III: Obtención de semilla en criadero y preengorde en semillero</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto I: Galicia</b>	<b>50</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto II: Andalucía</b>	<b>55</b>
<b>❖ Línea IV: Cultivo de semilla en el exterior: valoración de re poblaciones versus cultivo en cautividad</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto I: Galicia</b>	<b>64</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto II: Asturias</b>	<b>68</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto III: Cantabria</b>	<b>72</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto IV: Andalucía</b>	<b>73</b>
<b>❖ Línea V: Depuración</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto I: Galicia</b>	<b>81</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto II: Asturias</b>	<b>87</b>
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto III: Cantabria</b>	<b>91</b>
<b>❖ Línea VI: Integración de toda la información generada a nivel nacional en relación con los solénidos.</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Subproyecto I: Galicia</b>	<b>99</b>
<b>❖ Anexo: Divulgación de resultados</b>	<b>104</b>

## Solénidos comerciales en España:

Navaja (*Ensis arcuatus*)

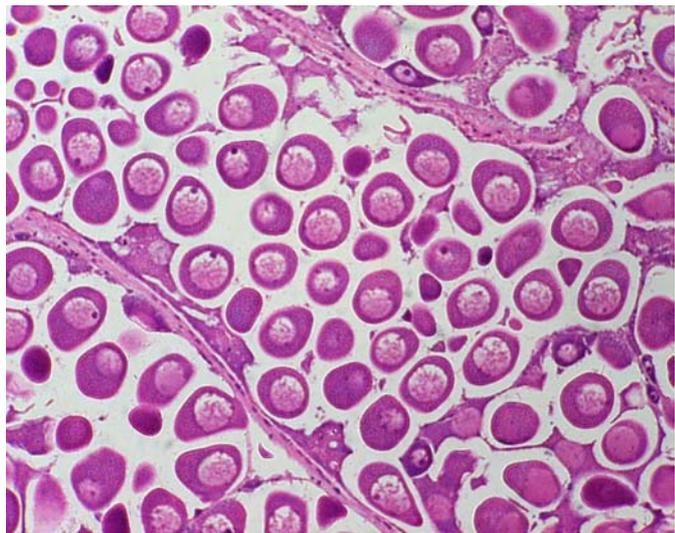
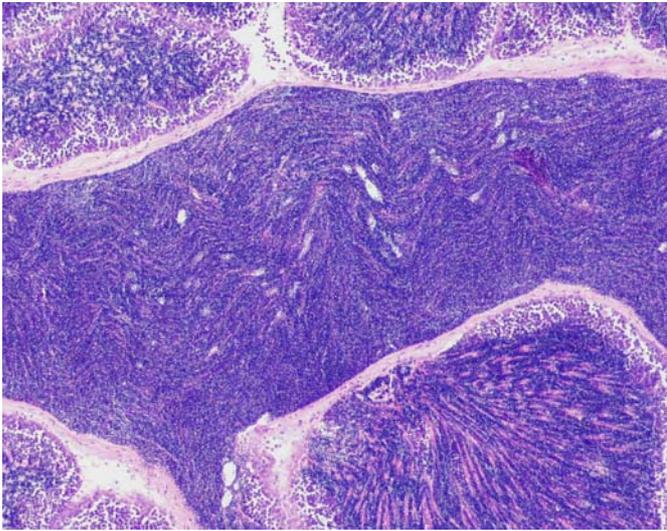


Longueirón (*Ensis siliqua*)



Longueirón vello, Muergo  
(*Solen marginatus*)





## LÍNEA I: REPRODUCCIÓN

# Cultivo y Gestión de Solénidos.

## 2003/2005

### Línea 1: REPRODUCCIÓN

#### RESUMEN

En esta línea de investigación se ha llevado a cabo un estudio del ciclo reproductivo de las tres especies en diferentes ubicaciones del litoral español. La navaja (*Ensis arcuatus*) se estudió en la Ría de Vigo y en la Ría de Arousa en Galicia. El longueirón (*Ensis siliqua*) en la Ría de Vigo y la Ría de Corcubión, también en Galicia. El longueirón vello (*Solen marginatus*) se estudió en las Rías de Vigo y Arousa (Galicia), Rías del Eo y Villaviciosa (Asturias) y en la desembocadura del Río Piedras (Andalucía).

En Galicia, las diferencias inter-específicas entre *E. arcuatus* y *E. siliqua* quedan corroboradas en este estudio realizado simultáneamente en el tiempo. *E. arcuatus* mantiene un patrón similar los dos años estudiados, el ciclo se inicia en el otoño y las puestas tienen lugar sucesivamente durante el invierno y la primavera, la especie se mantiene en reposo sexual durante el verano y parte del otoño. Sin embargo, *E. siliqua* presenta una época de reposo sexual más larga (durante todo el verano y el otoño) y el ciclo se inicia en invierno, concentrando la emisión de gametos en abril y mayo.

En cuanto a *S. marginatus*, en los dos bancos analizados en Galicia y en la ría de Villaviciosa de Asturias, la especie se mantiene en reposo sexual de julio a diciembre, iniciándose el ciclo a principios de año y realizándose las puestas en mayo y junio, mientras que en la Ría del Eo, en Asturias, se retrasa a los meses de julio y agosto. En el caso del banco estudiado en Andalucía, la puesta se centra también en los meses de mayo, junio y julio.

# Informe por Subproyectos:

## Subproyecto I: GALICIA

### Metodología

Durante 2003 y 2004, aproximadamente cada quince días, se recogieron muestras de *Ensis arcuatus* y *Ensis siliqua* en bancos naturales con diferentes condiciones oceanográficas. Para *E. arcuatus* se seleccionó un banco submareal en una zona externa (Islas Cíes- Ría de Vigo) y otro intermareal bajo en zona interna (Cambados – Ría de Arousa). En el caso de *E. siliqua* se muestrearon dos bancos submareales en dos zonas del litoral alejadas y con distintas condiciones ambientales. Uno de los bancos se ubica en las Rías Bajas (Barra – Ría de Vigo) y otro en la Costa da Morte (Fisterra – Ría de Corcubión), ambos en zonas abiertas (figura 1).

Para *Solen marginatus*, se muestreó mensualmente en una zona intermareal en el interior de la Ría de Arousa, durante 2003, 2004 y 2005. Durante 2005, se realizaron muestreos de la misma especie en Redondela, (ensenada de San Simón - interior de la Ría de Vigo) (figura 1).

Las técnicas de muestreo variaron en función del banco y la especie, empleándose el buceo en apnea en los bancos de las Islas Cíes, Barra y Fisterra; la forquilla con espejo en el de Cambados y el muestreo a pié con sal en el de Cabo de Cruz y Redondela.

Las muestras constaban de 20 ejemplares aproximadamente y eran trasladados al laboratorio en neveras isotérmicas, atadas con gomas y envueltas en paños húmedos con agua salada.

Durante el procesado de los ejemplares se realiza su disección y el registro de una serie de parámetros biométricos para la elaboración del índice de condición gonadal (ICG) e índices de condición somáticos, calculados como peso del tejido / peso seco de las valvas, siguiendo la fórmula de Darriba et al. (2004). En las especies *E. siliqua* y *S. marginatus*, tal y como se desarrolló en la redacción del proyecto, la gónada se procesa para la elaboración de cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina y la posterior determinación del estado de desarrollo gonadal tras su observación al microscopio óptico.

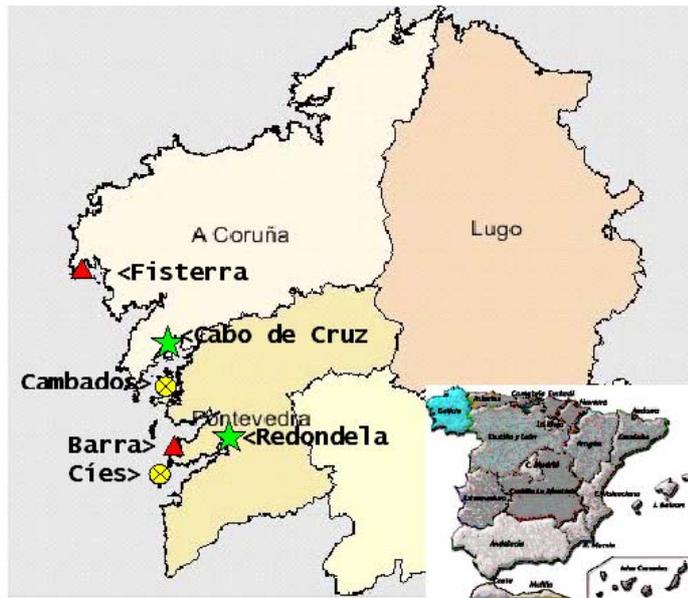


Fig. 1.- Ubicación geográfica de los bancos naturales de solénidos estudiados en Galicia: navaja (*E. arcuatus*) (⊗), longueirón (*E. siliqua*) (△) y longueirón vello (*S. marginatus*) (★).

## Resultados y discusión

La integración de los resultados de la evolución del índice de condición gonadal (ICG) y de las observaciones microscópicas del estado de desarrollo gonadal, basado en la escala de Darriba et al. (2004), en los bancos indicados, ha permitido un conocimiento más exhaustivo de la estrategia reproductiva de estas especies en el litoral gallego.

Las diferencias inter-específicas entre *E. arcuatus* y *E. siliqua* quedan corroboradas en este estudio realizado simultáneamente en el tiempo. *E. arcuatus* mantiene un patrón similar los dos años estudiados (figura 2), el ciclo se inicia en el otoño y las puestas tienen lugar sucesivamente durante el invierno y la primavera, la especie se mantiene en reposo sexual durante el verano y parte del otoño. Sin embargo, *E. siliqua* (figura 3) presenta una época de reposo sexual más larga (durante todo el verano y el otoño) y el ciclo se inicia en invierno, concentrando la emisión de gametos en abril y mayo. Aunque el ciclo de estas especies ya se había estudiado en un anterior proyecto financiado por Jacumar (Martínez-Patiño, 2003, Darriba et al. 2004 y 2005) y ya se habían detectado esas diferencias en el ciclo de ambas especies, se planteaba la incógnita de si la presencia de un período tan dilatado de puestas de *E. arcuatus* en la Ría de Vigo, en comparación con *E. siliqua* en la Ría de Corcubión, se debía a las

particulares condiciones oceanográficas de la Ría de Vigo. El estudio simultáneo de bancos de *E. arcuatus* y *E. siliqua* en la Ría de Vigo demuestra la existencia de un diferente comportamiento entre especies.

En este proyecto, también se pretendía evaluar la existencia de diferencias intra-específicas, por lo que, para cada una de las especies se muestrearon bancos con condiciones diferentes entre sí.

Con los resultados obtenidos no hemos encontrado diferencias intra-específicas en las ubicaciones geográficas seleccionadas. No obstante, en el caso de *E. siliqua*, se han observado ejemplares maduros y en puesta durante un período de tiempo algo más amplio en el banco de Barra (Ría de Vigo) que en el de Fisterra (Ría de Corcubión). En ambos bancos se empiezan a observar ejemplares maduros a finales de marzo (2003 y 2004), durante los meses de abril y mayo el 100% de los ejemplares están en los estados de madurez y de puesta. En el banco de Fisterra, en el mes de junio ya son predominantes los ejemplares en estado de agotamiento y son minoritarios los que permanecen emitiendo gametos, mientras que en el banco de Barra todavía se detecta un porcentaje de ejemplares en puesta hasta principios de julio. No obstante, estas diferencias no parecen ser suficientes para afirmar que existan diferencias en el ciclo reproductivo en ambas localizaciones. Martínez et al. (1997) también encuentran una concentración de puestas en primavera. Otro estudio del ciclo reproductivo de la misma especie en el Sur de Portugal (Gaspar y Monteiro, 1998) también cita una concentración de la época de puestas en la primavera.

En el caso de *S. marginatus*, el estudio comparativo entre los bancos de Redondela (Ría de Vigo) y Cabo de Cruz (Ría de Arousa) pone de manifiesto que la especie se mantiene en reposo sexual de julio a diciembre, iniciándose el ciclo a principios de año y alcanzándose la madurez en el mes de mayo, en ambos bancos. En los meses de mayo y junio casi el 100% de los ejemplares están en estado de madurez-puestas y en julio una pequeña parte permanece en este estado, mientras que la mayoría de los ejemplares se encuentran en estado de agotamiento y algunos ya en reposo sexual. Los resultados confirman la no existencia de diferencias intra-específicas.

La existencia de una estrategia estable en distintas ubicaciones, para cada una de las especies estudiadas, pone de manifiesto la posibilidad de generalizar las medidas de gestión de la extracción del recurso, especialmente en cuanto al establecimiento de las vedas reproductivas.

Del estudio de los índices de condición somáticos, en contraposición con el índice de condición gonadal, se desprende que *E. arcuatus*, en el banco de Rodas, presenta un descenso de los niveles de biomasa de la glándula digestiva, el músculo aductor anterior y el pie de diciembre de a marzo, coincidiendo con el desarrollo gonadal (figura 2). Posteriormente se da una recuperación de la biomasa de estos tejidos, especialmente en la glándula digestiva a partir del mes de abril, favorecido por el incremento de la disponibilidad de alimento en el medio que tiene lugar en esa época por el desarrollo de los blooms fitoplanctónicos.

Los resultados obtenidos en el banco de Means (Cambados) son, en términos generales, similares a los expuestos para el banco de Rodas, aunque la menor periodicidad de los muestreos dificulta la interpretación de resultados (figura 2).

El patrón observado en *E. siliqua* en los bancos estudiados, en cuanto a la relación entre el índice de condición gonadal y los índices de condición somáticos, no coincide con lo expuesto para *E. arcuatus* (figura 3). La glándula incrementa su biomasa a la vez que lo hace la gónada (de febrero a mayo) y en los tejidos musculares se da un descenso de biomasa desde principios de año hasta mayo-junio con un posterior ascenso. Lo cual evidencia una estrategia reproductiva diferente entre ambas especies del mismo género. El hecho de que esta especie carezca de un incremento de la biomasa gonadal en el invierno, cuando el alimento escasea en el medio, y que el desarrollo gonadal tenga lugar hacia la primavera, ya indica la existencia de una estrategia diferente.

En *S. marginatus*, en el banco de Cabo de Cruz, se observa un patrón repetido del índice de condición de la glándula digestiva (ICH), durante 2003, 2004 y 2005, indicando un incremento de la biomasa de este órgano en primavera verano, disminuyendo de forma importante en el otoño y manteniéndose en niveles mínimos durante casi todo el invierno (figura 4). Esta evolución guardaría una directa relación con la disponibilidad de alimento en el medio, que es mayor en la época de afloramientos en la Ría. En el banco de Redondela, durante 2005, el patrón es similar aunque con unos valores medios inferiores (figura 4). En los demás índices no se observan claros patrones estacionales.

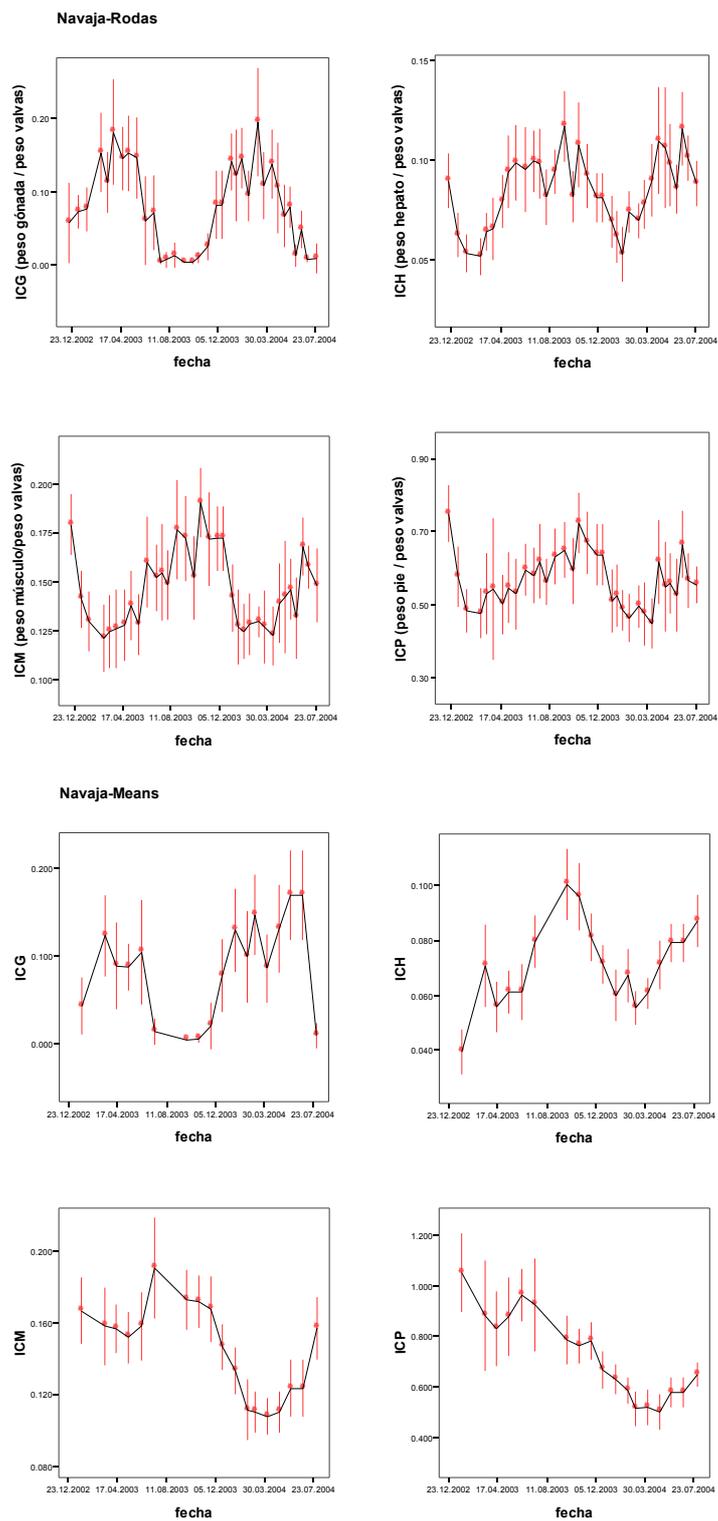


Fig. 2.- Evolución de los índices de condición somáticos (ICH, ICM e ICP) y gonadal (ICG) de la navaja (*E. arcuatus*) del banco de Rodas (I.Cíes-Ría de Vigo) y Meáns (Cambados-Ría de Arousa) durante los años 2003 y 2004.

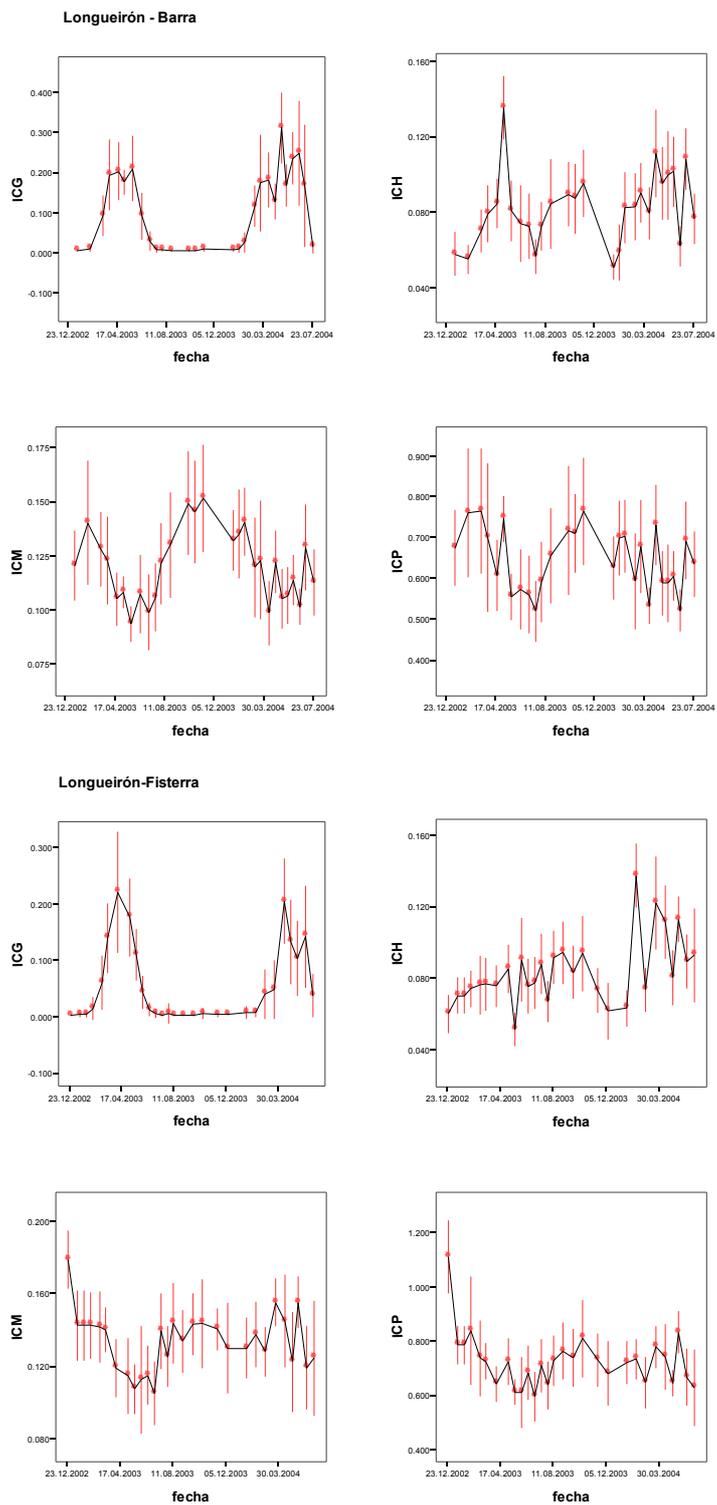
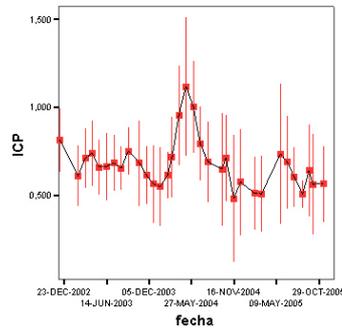
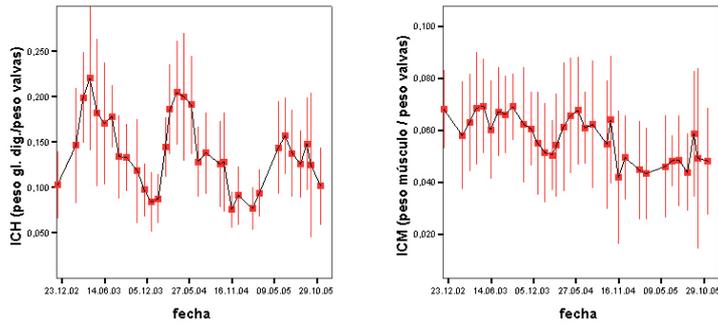


Fig. 3.- Evolución de los índices de condición somáticos (ICH, ICM e ICP) y gonadal (ICG) del longueirón (*E. siliqua*) del banco de Barra (Cangas-Ría de Vigo) y Fisterra (Ría de Corcubión) durante los años 2003 y 2004.

Longueirón vello – Cabo de Cruz



Longueirón vello - Redondela

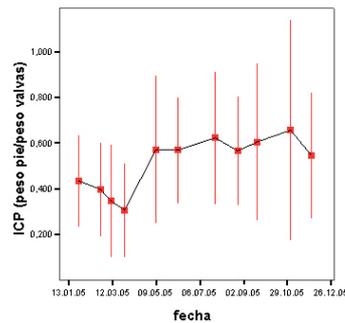
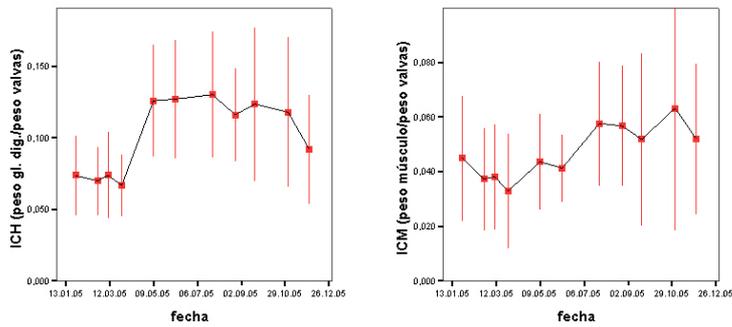


Fig. 4.- Evolución de los índices de condición somáticos (ICH, ICM e ICP) del longueirón vello (*S. marginatus*) del banco de Cabo de Cruz (Ría de Arousa) y Redondela (Ría de Vigo) durante el período de muestreo.



## Subproyecto II: ASTURIAS

### Metodología

Los muestreos se realizaron en los años 2003, 2004 y 2005 sobre los bancos naturales de *Solen marginatus* de la ría del Eo (43° 31,6' N; 7° 01,9' W) y la de Villaviciosa (43° 32,7' N; 5° 23,8' W), en el Principado de Asturias. Las poblaciones están asentadas en la zona intermareal, quedando al descubierto en mareas vivas, con coeficiente superior a 0,8.

Durante los 3 años se recogieron, mensualmente y en ambas rías, veinte individuos adultos de talla superior a la comercial (80 mm, talla mínima impuesta por la Unión Europea en el Reglamento (CE) nº 850/98). De éstos, 10 individuos fueron procesados para la histología y los otros 10 para el cálculo de los distintos índices de condición. De los 10 individuos procesados para cada análisis, 5 fueron machos y 5 hembras (anteriormente se observó que presentaban una *sex ratio* 1:1).

Los ejemplares fueron capturados por el método de pesca con sal y se trasladaron al laboratorio en neveras isotermas, donde se mantuvieron durante 2-3 horas en agua salada para eliminar las arenas.

En los individuos recogidos en ambas rías se tomaron las siguientes medidas:

- a) *Dimensiones*: longitud y anchura
- b) *Pesos*: fresco total, valvas frescas, valvas secas (secadas en estufa a 105°C durante 24 horas), vianda, hepatopáncreas, músculo abductor anterior, pie y gónadas macho y hembra.

Con los valores obtenidos se elaboraron los índices de condición del soma (ICS), de la gónada (ICG), del hepatopáncreas (ICH), del pie (ICP) y del músculo abductor anterior (ICM), utilizando la siguiente fórmula: Peso fresco tejido/ Peso seco valvas.

Para el estudio de la secuencia del ciclo gonadal se hizo un estudio microscópico de la gónada, seccionando 1cm<sup>3</sup> de la porción basal del pie. Las preparaciones histológicas se realizaron siguiendo el siguiente protocolo: *Fijación* (Davidson durante 24 horas); *Deshidratación* (sucesivos baños de alcohol de graduación creciente); *Inclusión* (parafina); *Cortes histológicas* (con microtomo, secciones a 5-7 µm de espesor); *Rehidratación y Tinción* (Hematoxilina de Harris-Eosina).

Para determinar el estado de maduración sexual de la gónada se utilizó la escala empleada por Gaspar (1996) que distingue seis estados de maduración (*Estado 0* –

Reposo sexual; *Estado I* – Gametogénesis inicial; *Estado II* – Gametogénesis avanzada; *Estado III* – Madurez; *Estado IV* – Desove; *Estado V* – Post-desove).

Se tomaron datos de los parámetros ambientales, como temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto y clorofilas. La toma de muestras de agua para la determinación de pigmentos, se hizo de la columna de agua integrada (0-5m) siguiendo la técnica de Lindahl (1986). Para estimar la producción primaria se determinó la concentración de clorofila *a*, por métodos espectrofluorimétricos, que fueron realizados por el Instituto Tecnológico para el Control del Medio Mariño de la Xunta de Galicia.

## Resultados y discusión

En la ría del Eo se observó la presencia de tres especies de solénidos: *Ensis arcuatus*, *Ensis siliqua* y *Solen marginatus* y en la ría de Villaviciosa *E. siliqua* y *S. marginatus*, no obstante, la especie más abundante y sobre la que se basa la explotación es *S. marginatus*, por lo que los estudios se centran en esta especie.

*Índices de condición:* En *S. marginatus*, la gónada se sitúa en la base del pie extendiéndose por su interior. Éste método nos permite obtener una primera información del estado de desarrollo gonadal de la población. El ICG refleja las variaciones estacionales del peso de la gónada, un aumento en el valor del índice se consideró como indicador de la gametogénesis, mientras una disminución se interpretó como ocurrencia de desove. Los demás índices nos permiten seguir la estrategia metabólica que utiliza la especie, en cuanto a movilidad de reservas para su reproducción.

En la figura 5 podemos observar que la evolución del ICG es similar entre machos y en hembras de la misma ría, pero diferente entre las ambas zonas.

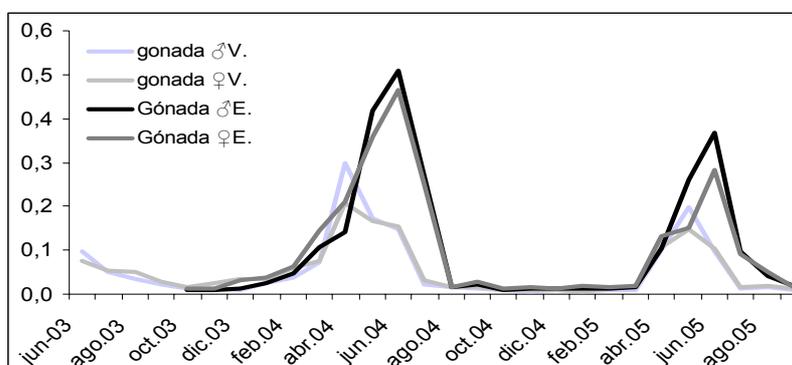


Fig. 5.- ICG en machos y hembras de *S. marginatus* en las rías Eo y Villaviciosa (años 2003- 2005).

Los valores registrados a lo largo de los 3 años de estudio, indican que las fechas de desove del 2004 coinciden con el desove del 2005 para ambas rías, pero no entre ambas zonas. En Villaviciosa el desove tiene lugar en mayo-junio, mientras que en la ría del Eo, en julio-agosto.

Existen diferencias significativas entre los índices calculados en ambas rías entre los meses de marzo a julio del año 2004 (test *U de Mann Whitney*,  $p \leq 0,05$ ).

Para expresar la dinámica en la utilización de la energía se han generado índices morfológicos. La variación en el peso del hepatopáncreas refleja procesos de almacenamiento y transferencia de proteínas y lípidos asociados con el esfuerzo reproductivo. En tanto, las variaciones del pie serían una indicación de la energía almacenada como lípidos corporales y proteínas que pueden ser movilizadas para enfrentar los requerimientos en períodos sin alimentación. Ambos índices suelen asociarse en forma inversa al grado de madurez (ICG).

La figura 6 nos muestra la evolución de los Índices de Condición. Observamos que la población de *S. marginatus* de la ría del Eo presenta mayor rendimiento en carne que en Villaviciosa.

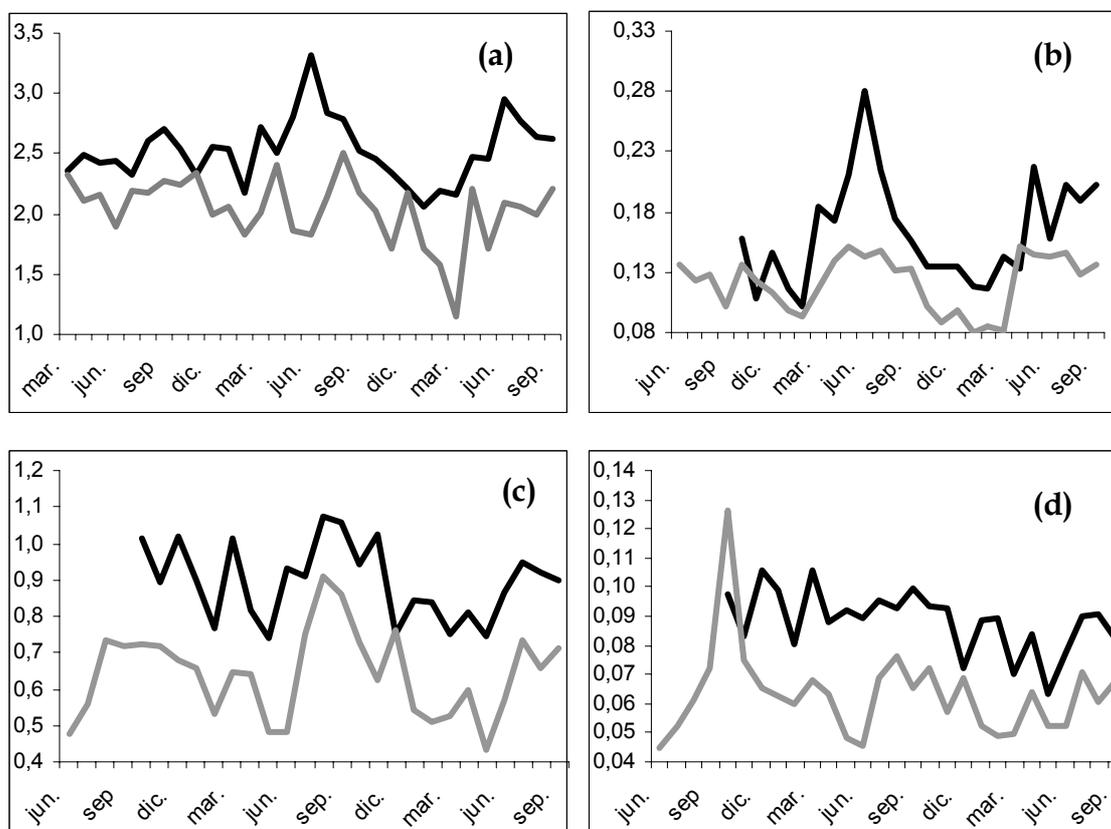


Fig. 6.- ICS(a), ICH (b), ICP (c) e ICM (d) en *S. marginatus* en las rías Eo y Villaviciosa (años: 2003-2005).

El ICG sigue el mismo patrón en machos y hembras, alcanzando sus valores máximos entre los meses de abril-mayo, coincidiendo con los mínimos encontrados en el ICH y el ICP, que siguen un ciclo estacional con oscilaciones similares, e inversas a las del ICG. La alternancia encontrada entre los valores del ICP, ICH y el ICG, podrían ser ocasionados por el almacenamiento de sustancias energéticas en el pie y en el hepatopáncreas y su utilización durante la gametogénesis, madurez y desove.

Tras analizar los índices de condición de ambas poblaciones se realiza un análisis biométrico con el fin de determinar si las diferencias en los índices pueden ser debidas los distintos tamaños de los ejemplares analizados.

El resultado del análisis biométrico de los 240 individuos de *S. marginatus* procedentes de cada una de las rías nos muestra que no existen diferencias significativas en la longitud (ANOVA,  $F_{1,479} = 1,129$ ,  $p = 0,288$ ) ni en el peso total (ANOVA,  $F_{1,479} = 0,749$ ,  $p = 0,387$ ) de las dos poblaciones analizadas.

*Análisis histológico:* La histología de la gónada en *S. marginatus*, en ambas rías, se realizó desde el mes de febrero del 2003 hasta el mes de septiembre del 2005.

Año 2003: En el mes de febrero, la población de la ría del Eo, se encontraba en el estadio (EI), iniciando la gametogénesis, mientras que la de Villaviciosa en el estadio (EII), más avanzada. En los meses de abril y mayo, los individuos de ambas rías estaban sexualmente maduros (EIII). En junio se inicia la puesta (EIV) en la ría de Villaviciosa, comenzando en el mes de julio en la ría del Eo, mes en el que en Villaviciosa ya se produce una restauración de la gónada de débil intensidad.

Año 2004: En Villaviciosa en el mes de enero, parte de la población se encontraba en estado de inicio de la gametogénesis (EI) y el resto estaba en el período de gametogénesis avanzada (EII), que se continúa en febrero y marzo en toda la población. En abril todos los individuos se encontraban sexualmente maduros (EIII) y en mayo parte de la población comienza la puesta (EIV) que se prolonga hasta junio. En julio la mayoría de la población se encontraba en post-desove (EV). Se observó un período de reposo sexual (E0) desde agosto hasta octubre. En los meses de noviembre y diciembre se encontraron individuos iniciando la gametogénesis.

En la ría del Eo, en los meses de enero y febrero la mayoría de la población se encontraba en estado de inicio de la gametogénesis. En marzo y abril tuvo lugar la gametogénesis avanzada y en mayo y junio los individuos eran sexualmente maduros; el desove comenzó en julio, prolongándose hasta agosto. En septiembre y octubre se

observó un período de reposo sexual, siendo en este último mes en el que algunos individuos comenzaron la gametogénesis, estado en el que continuaron hasta diciembre.

Año 2005: La población de la ría del Eo desova en los meses de julio y agosto, mientras que en Villaviciosa se realiza una puesta generalizada en junio.

*Parámetros ambientales:* Una vez analizados los resultados, y tras comprobar que existen diferencias significativas entre ambas zonas de muestreo, se analizan los parámetros ambientales con el fin de poder determinar cuales son las causas del distinto comportamiento entre ambas poblaciones.

El pH, salinidad, oxígeno y temperatura presentan una evolución similar, siguiendo el mismo patrón en ambas rías.

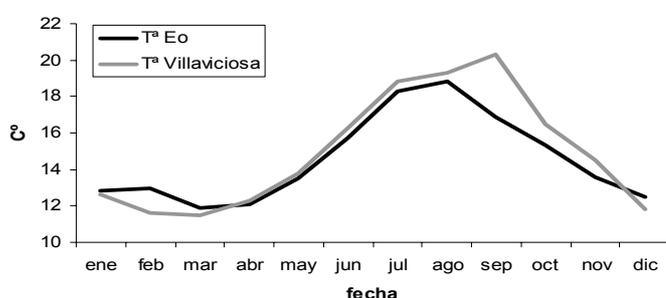


Fig. 7.-Evolución mensual de la temperatura en las rías del Eo y Villaviciosa (año 2004).

No existen diferencias significativas entre los valores de la temperatura de las dos rías estudiadas (test *U de Mann Whitney*,  $p > 0,05$ ). Se descarta la temperatura como el factor causante de las diferencias encontradas.

En cuanto a la concentración de clorofila *a*, en la ría de Villaviciosa, en el 2003, entre los meses de mayo y agosto se suceden episodios de altas concentraciones. Se observaron épocas con valores bajos entre septiembre y diciembre. En el año 2004 ocurrieron episodios con altas concentraciones entre mayo y julio, descendiendo desde este mes hasta diciembre.

En la ría del Eo, el año 2003 comienza con concentraciones bajas, alcanzando un máximo en el mes de junio. A partir de este mes la concentración desciende. En el año 2004, las máximas concentraciones se obtienen en mayo-junio. Los siguientes meses presentaron bajas concentraciones.

Realizado el análisis estadístico de la concentración de clorofila *a* entre ambas rías, se observaron diferencias significativas en los meses de febrero, marzo, abril, julio, septiembre y octubre para el año 2003 y, enero, febrero, mayo, y desde septiembre hasta diciembre para el año 2004 (test *U de Mann Whitney*,  $p \leq 0,05$ ).

Con el fin de conocer la productividad primaria de cada zona, se calculó la media de las concentraciones de clorofila *a* para ambas rías. La concentración media anual de clorofila *a* para las rías de Villaviciosa y Eo fue de 2,67  $\mu\text{g/l}$  y 1,34  $\mu\text{g/l}$ , para el año 2003 y de 2,61  $\mu\text{g/l}$  y 1,61  $\mu\text{g/l}$  para el 2004, respectivamente.

En cuanto a la relación entre el ICG y la clorofila *a*, en la ría de Villaviciosa, los valores máximos del I.C.G. se producen justo antes de las concentraciones más altas de clorofila *a*, meses de primavera, mientras que en la ría del Eo, éstos sucedieron con un retardo, produciéndose a principios de verano.

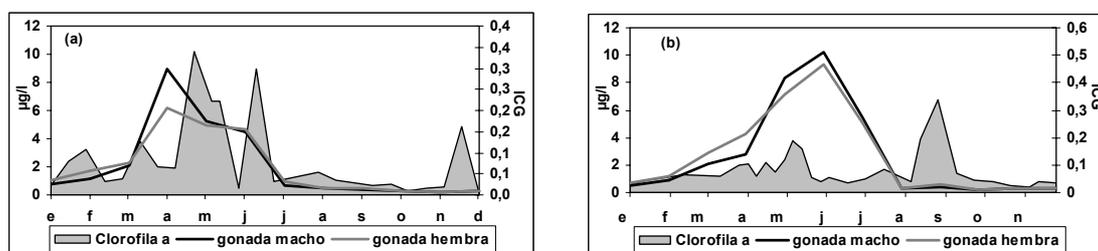


Fig. 8.- Relación entre clorofila *a* e ICG en el año 2004 en la ría de Villaviciosa (a) y en la del Eo (b).

Generalmente el ciclo reproductivo de una especie incluye una serie de acontecimientos que, funcionando en coordinación con los cambios estacionales del medio, producen el modelo característico de cada especie. La acción conjunta de factores exógenos y endógenos determina la época y la duración de la actividad reproductiva en los moluscos bivalvos (Giese & Pearse, 1974).

Dentro de la familia Solenidae se han encontrado varios patrones reproductivos. *Ensis arcuatus* en la ría de Vigo presenta un ciclo anual, compuesto por una fase de reposo durante los meses de verano, seguida de una intensa gametogénesis a finales de verano y otoño, dando lugar a una sucesión de puestas y restauraciones en invierno y primavera (Darriba, 2001). El ciclo reproductivo de *Ensis siliqua* descrito por Darriba (2001) en la ría de Vigo y por Martínez (2002) en la ría del Barquero presenta una fase de reposo sexual durante el verano y otoño, seguida de una intensa gametogénesis en invierno que da lugar a una única puesta a finales de primavera.

En las costas atlánticas del sur de la Península Ibérica el estudio realizado por Tirado *et al.*, (2002) sobre poblaciones de *S. marginatus* de la desembocadura del río San Pedro, muestra un período de emisión de gametos claramente estacional, siendo abril y mayo los meses en los que prácticamente toda la población realiza la puesta.

La influencia de los parámetros ambientales en el proceso reproductivo ha sido tratada en numerosos estudios. Los parámetros que han resultado de mayor importancia son la temperatura y la cantidad de alimento disponible (Darriba, 2001).

La concentración de clorofila *a* se utiliza como medida de disponibilidad de alimento por ser ésta un indicador directo de la cantidad de fitoplancton en el agua, al estar presente en todas las especies del fitoplancton (Lalli & Parson, 1997).

Existe una estrecha interrelación entre el proceso gametogénico en bivalvos, la acumulación de reservas y la disponibilidad de alimento en el medio, ya que la gran demanda de energía requerida en la reproducción se satisface a partir del alimento recién ingerido o de las reservas acumuladas en épocas de abundancia de fitoplancton (Darriba, 2001).

Según algunos autores, la época de desove coincide con elevadas concentraciones de fitoplancton en el medio (Seed, 1976). Esto supone una ventaja para las larvas debido a que, además de encontrarse con gran cantidad de alimento en el medio, las condiciones ambientales que favorecen los blooms fitoplanctónicos también son favorables para su desarrollo (Starr *et al.*, 1990).

Según Delgado y Pérez Camacho (2005) en su estudio con *R. decussatus*, la energía procedente de la ingestión se destina prioritariamente al proceso reproductivo. De esta forma, el alimento disponible guarda relación directa con la velocidad de desarrollo gonadal. Así, existen grandes diferencias en cuanto al tiempo y duración de la gametogénesis entre poblaciones de bivalvos con distintas disponibilidades de alimento (Hilbish & Zimmerman, 1988).

Las diferencias observadas en el ciclo reproductor entre las poblaciones de la ría del Eo y la ría de Villaviciosa, descartados el fotoperíodo, por ser poblaciones de latitud similar, y otros factores ambientales, ya comentados, son consistentes con las diferencias en productividad primaria observadas en ambas rías. Así, la mayor productividad de la ría de Villaviciosa permite apoyar la idea de que la población acumule reservas durante todo el año permitiendo así su maduración justo antes del bloom de primavera, encontrando entonces las larvas las condiciones óptimas para su desarrollo. Sin embargo, en la ría del Eo, la producción de la ría es insuficiente durante

todo el año para acumular las reservas necesarias para el proceso reproductivo, precisando la población el aporte energético del bloom de primavera para poder madurar y producir el desove.

## **Subproyecto III: ANDALUCÍA**

### **Metodología**

Mensualmente se han recogido muestras de individuos adultos de longuerón (*S. marginatus*) procedentes de las marismas del río Piedras, durante todo un año (marzo 2004 a marzo 2005) y se han trasladado al laboratorio del CIFPA “Agua del Pino”. Cada mes, sobre una muestra de 20 ejemplares, se han pesado y medido en sus 3 ejes y se han diseccionado separando la glándula digestiva, el pie, el músculo abductor anterior, la gónada (cuando ésta era apreciable) y las valvas. Éstas se han sometido a 60 °C durante 3 horas para obtener el peso seco. En función de la razón de pesos entre las distintas partes y el peso de las valvas se ha estudiado la evolución anual de los índices de condición del longuerón.

Otros 10 ejemplares han sido usados para realizar cortes histológicos seriados y valorar el sexo y los cambios anuales del desarrollo gonadal del longuerón. Para ello se ha seguido el método de histología clásica y tinción con hematoxilina-eosina. Posteriormente se han observado al microscopio óptico, distinguiendo 5 estados de desarrollo gonadal, que se pueden resumir en: 0 – Gónada vacía; I – Desarrollo incipiente; II – Gónada en claro desarrollo; III – Maduración completa – Puesta; IV – Postpuesta, vaciado de la gónada. (Darriba, 2001 modificado).

## Resultados y discusión

En el banco natural estudiado, la razón de sexos se aproxima mucho a la relación 1:1 (52.6% ♀: 47.4% ♂)

En cuanto a las relaciones de las dimensiones de la concha para los ejemplares estudiados, los resultados se recogen en la siguiente tabla:

Tabla I.- Relaciones biométricas entre las variables analizadas.

	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Relación variables</b>
Longitud- Peso	0.000008	2.7346	0.9149	Potencial
Longitud- Altura	4.8827	8.8267	0.8271	Lineal
Longitud-Anchura	4.7427	24.693	0.7015	Lineal
Altura-Anchura	0.8132	0.7104	0.7357	Lineal

Puede apreciarse un aumento constante de los parámetros, aunque hay una variabilidad mayor con la anchura posiblemente debido a la inexactitud del punto de medida y a la presión ejercida sobre las valvas al medir (Castillo y Rey, et al, 2001).

Los índices de condición estudiados han sido: Índice de Condición Gonadal (ICG), Índice de Condición del Músculo Abductor Anterior (ICM), Índice de Condición de la Glándula Digestiva (ICD), Índice de Condición del Pie (ICP) e Índice de Condición Total (ICT).

Los resultados muestran que el ICP no varía a lo largo del período estudiado ya que no existen diferencias significativas.

El ICM presenta una gran variabilidad, habiéndose observado un fuerte pico descendente en el mes de Diciembre. La tendencia general es la disminución de este índice desde Octubre del 2004 a Abril del siguiente año.

En relación al ICD se produce un aumento progresivo con el tiempo presentando dos picos, uno en Noviembre y otro en Marzo-Abril, posiblemente relacionado con el Bloom de fitoplancton de Otoño y el de Primavera.

El ICG aumenta desde Octubre a Abril pues se va produciendo la maduración sexual hasta llegar a Marzo-Abril que es cuando comienza la época de puestas. En el mes de Febrero y de manera contraria a lo que cabría esperar, ha aparecido un pico descendente difícil de explicar, se podría relacionar con las bajas temperaturas registradas en este mes en el 2005.

Analizando el ICT, se aprecia un aumento a lo largo de los meses de estudio debido al aumento de la Glándula Digestiva y, sobre todo, al crecimiento de la gónada.

Con este estudio aún no podemos sacar conclusiones definitivas sobre el transporte de energía a lo largo del desarrollo gonadal de esta especie, quedando pendiente completarlo en proyectos futuros.

La evolución del desarrollo gonadal del longuerón en Huelva se observa en la figura 9.

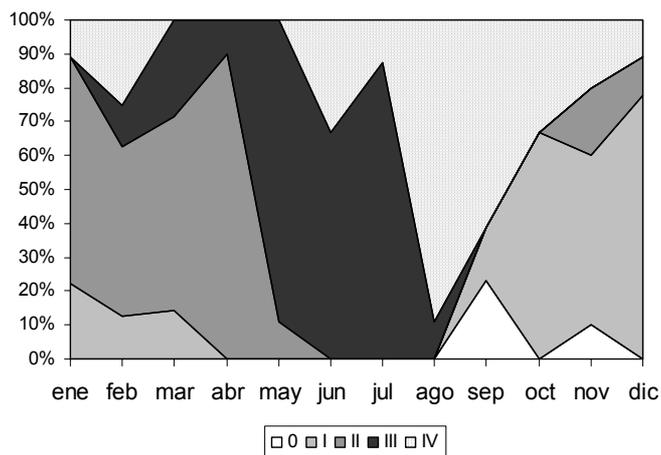
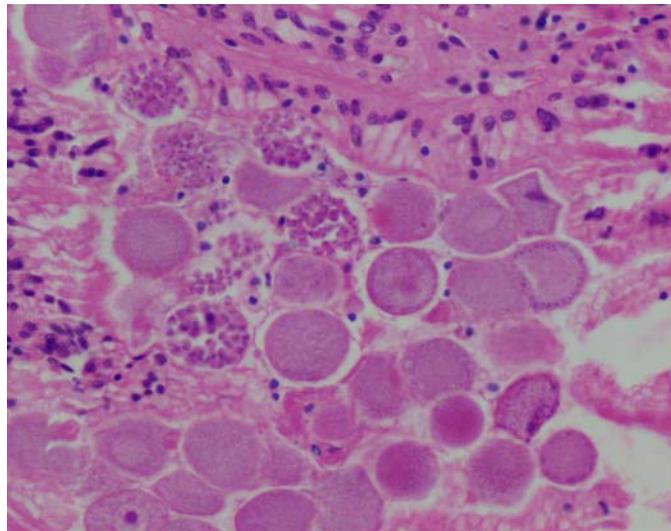
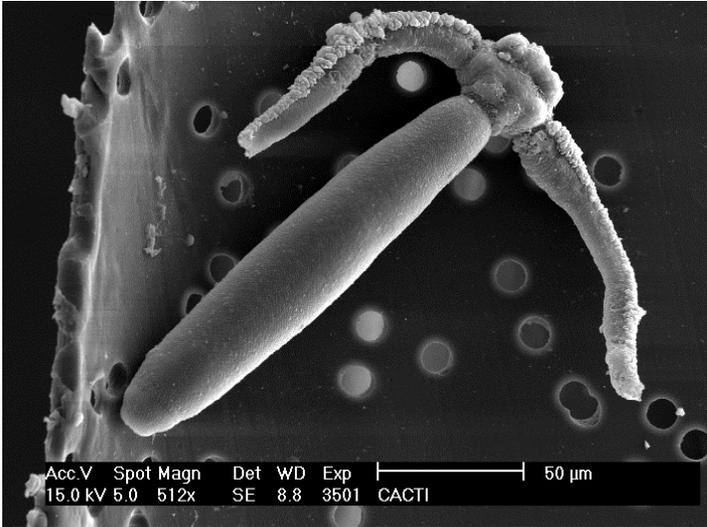


Fig. 9.- Evolución anual del desarrollo gonadal del longuerón en Huelva.

Tal como se ha observado en las puestas naturales en individuos estabulados en el criadero de “Agua del Pino” (véase Línea 3), la época de maduración gonadal y puesta (III) se extiende entre Marzo y Junio, observándose después una alta proporción de individuos en los que todavía se observan restos y reabsorción de gónadas (IV). En enero de 2004 la proporción de individuos que se encontraban ya madurando (gónada en estado II) fue muy superior a lo observado en el 2005.

Según estos resultados, *S. marginatus* presenta una única época de puesta centrándose en la Primavera, por lo que en caso de tener que realizar alguna regulación de las capturas, debe considerarse ésta como el periodo más adecuado. En vista de estos resultados y los derivados de la Línea 3 (Acondicionamiento), no parece rentable la estabulación de reproductores en los criaderos para las puestas, en condiciones de temperatura constante, hasta principios de marzo, ya que no se favorece el desarrollo gonadal antes del periodo natural.



## LÍNEA II: PATOLOGÍA

## Línea II: PATOLOGÍA

### RESUMEN

En Galicia se han realizado análisis patológicos desde enero de 2003 hasta mayo de 2005 de navaja (*Ensis arcuatus*) en Cambados (Ría de Arosa) y en Rodas (Islas Cíes, Ría de Vigo), longueirón (*Ensis siliqua*) en Finisterre y Barra (Ría de Vigo) y de lo denominado en Galicia “longueirón vello” (*Solen marginatus*) en Cabo de Cruz (Ría de Arosa). Los principales comensales y parásitos observados han sido: ciliados en branquia, acumulaciones bacterianas, la gregarina *Nematopsis* sp., coccidios, turbelarios, copépodos, trematodos, y organismos tipo rickettsias/chlamydias. Merece especial atención la presencia de *Marteilia* sp. detectada en longueirón “vello”.

En Asturias los controles se llevaron a cabo en los bancos naturales de *Solen marginatus*. Los parásitos encontrados fueron Tremátodos, en el músculo del pie, con unas prevalencias bajas del 1% y 8% en la rías del Eo y Villaviciosa, respectivamente

En Cantabria se han realizado análisis en ejemplares de lo denominado en esta Comunidad como “Muergo” (*Solen marginatus*), en la bahía de Santander-Pedreña (Octubre de 2004) y de San Vicente de la Barquera (Septiembre de 2004 y abril de 2005). El principal parásito encontrado es la gregarina *Nematopsis* sp., observándose también metacercarias y esporocistos de trematodos en prevalencias relativamente bajas.

En Andalucía se ha realizado durante 3 años el seguimiento trimestral de los dos bancos naturales más significativos de *Solen marginatus* del litoral onubense: el situado en la desembocadura del río Piedras y el localizado en el litoral, frente a La Antilla, entre las isobatas de 10 y 15 m. Ambas poblaciones muestran dos perfiles diferentes con respecto a los parásitos detectados. El río Piedras se caracteriza por una prevalencia mayor de *Marteilia* sp., *Trichodina* sp., bolsas bacterianas en branquia, turbelarios y metacercarias y esporocistos de trematodos. Por el contrario, en el banco natural de La Antilla no se detectaron trematodos y la prevalencia de la mayoría del resto de simbiontes fue significativamente menor.

## Informe por Subproyectos:

### Subproyecto I: GALICIA

#### Metodología

Se realizaron muestreos desde Enero de 2003 hasta Mayo de 2005 de navaja (*Ensis arcuatus*) en Cambados (Ría de Arosa) y en Rodas (Islas Cíes, Ría de Vigo), longueirón (*Ensis siliqua*) en Finisterre y Barra (Ría de Vigo) y longueirón “Vello” (*Solen marginatus*) en Cabo de Cruz (Ría de Arosa).

Las muestras compuestas en general por 30 ejemplares, se procesaron mediante técnicas histológicas. Estas comprenden: fijación de los diferentes tejidos del moluscos en solución Davidson, deshidratación con alcoholes de graduación creciente, aclarado con xileno, inclusión y formación de bloques con parafina, cortes de 5 micras, tinción con hematoxilina-eosina y observación al microscopio óptico.

#### Resultados y discusión

##### Navaja (*Ensis arcuatus*)

La especie ha mantenido su producción en los últimos años (140 Tm/2005) y no se ha visto afectada por mortalidades. Se han observado una gran variedad de parásitos, en general con prevalencias e intensidades de parasitación bajas.

Los principales comensales y parásitos observados han sido: ciliados en branquia; acumulaciones bacterianas en las branquias, con prevalencias inferiores al 10%; la gregarina *Nemaptosis* sp. con prevalencias relativamente altas (superiores en Rodas al 50%), pero con intensidad de parasitación bajas, coccidios renales, con prevalencias variables; turbelarios y copépodos en branquia, con una prevalencia inferior al 20%; y metacercarias y esporocistes de trematodos, con prevalencias inferiores al 10 %. Las metacercarias aparecieron enquistadas en el músculo, mientras que los esporocistes ocupaban el manto, e inhibían total o parcialmente el desarrollo gonadal. Hemos profundizado en la identificación de las cercarias de trematodo, aislando éstas a partir de los esporocistes y analizando su morfología con microscopía óptica y de barrido. Los primeros datos revelan que la cercaria pertenece a la familia Bucephalidae.

Dentro de las alteraciones tisulares destacamos la presencia, en algunos casos, de infiltraciones y necrosis en algunos tejidos, especialmente en branquia y glándula digestiva.

#### Longueirón (*Ensis siliqua*)

Desde el año 2001 se observa un incremento paulatino de la producción, estando actualmente en torno a 26 Tm./año. En verano de 2003 se han registrado algunos casos de presuntas mortalidades en la especie, no relacionadas con la presencia de agentes patógenos. Sin embargo, la producción fue superior al año anterior.

Los comensales y parásitos observados han sido similares a los encontrados en navaja: ciliados y acumulaciones bacterianas en las branquias; rickettsias/chlamydias en la glándula digestiva; la gregarina *Nematopsis* sp., con sus prevalencias muy altas en Finisterre (Próximas al 100%); coccidios renales; turbelarios; copépodos; y metacercarias y esporocistes de trematodos, con prevalencias inferiores al 15%.

En relación a las alteraciones tisulares destacamos la presencia, en determinados casos, de infiltraciones en algunos tejidos, especialmente en branquia y glándula digestiva, presentando una incidencia del 50% en Julio de 2004 en Finisterre.

#### Longueirón “Vello” (*Solen marginatus*)

Se observa en los últimos años un descenso acusado de producción, siendo en 2004 inferior a las 4 Tm.. Los motivos de esta tendencia pueden ser varios: condiciones ambientales, furtivismo, recurso poco atractivo, patologías, etc.

Los comensales y parásitos observados han sido diferentes a los encontrados en navaja y longueirón. Merece especial atención la presencia de *Marteilia* sp., con prevalencias altas (superiores en la mayoría de los casos el 25% con un máximo del 80%) e intensidades de parasitación variables. Se han observado también: ciliados en las branquias, con prevalencias variables; rickettsias/chlamydias en la glándula digestiva, con prevalencias en determinados casos en torno al 50%; turbelarios; copépodos; y esporocistes de trematodos, con prevalencias en general inferiores al 20%.

Respecto a las alteraciones tisulares destacamos la presencia, en determinados casos de infiltraciones y granulocitomas.

Como comentario general en relación a las patologías detectadas en las tres especies, tal vez lo más llamativo sea la detección de *Marteilia* sp. en longueirón “Vello” de Cabo de Cruz, por estar este parásito asociado a patologías importantes en otros moluscos.

Cabe destacar también las altas prevalencias de *Nematopsis* sp., en algunas zonas como Finisterre con el longueirón, con detección en la práctica totalidad de las muestras, y en navaja en Rodas; y la presencia de esporocistes de trematodos en las tres especies, que inhiben, en muchos casos, el desarrollo gonadal.

## **Subproyecto II: ASTURIAS**

### **Metodología.**

Los muestreos se realizaron sobre los bancos naturales de *Solen marginatus* de la ría del Eo (43° 31,6' N; 7° 01,9' W) y la de Villaviciosa (43° 32,7' N; 5° 23,8' W). Las poblaciones están asentadas en la zona intermareal, quedando al descubierto en mareas vivas, con coeficiente superior a 0,8.

Durante los 3 años de estudio, se recogieron mensualmente diez individuos adultos, cuya talla era siempre superior a la comercial (80 mm, talla mínima impuesta por la Unión Europea en el Reglamento (CE) nº 850/98). De estos 10 individuos, 5 fueron machos y 5 hembras.

Los ejemplares fueron capturados por el método de pesca con sal y se trasladaron al laboratorio en neveras isotermas, donde se mantuvieron durante 2-3 horas en agua salada para eliminar las arenas.

Para este estudio se hizo un estudio microscópico, seccionando 1cm<sup>3</sup> de la porción basal del pie procurando incluir glándula digestiva, gónada y pie. Las preparaciones histológicas se realizaron siguiendo el siguiente protocolo.

1. **Fijación:** Davidson durante 24 horas.
2. **Deshidratación:** sucesivos baños de alcohol de graduación creciente.
3. **Inclusión:** parafina.
4. **Secciones histológicas:** con microtomo, secciones a 5-7 µm de espesor.
5. **Rehidratación y Tinción:** Hematoxilina de Harris-Eosina.

Posteriormente se procedió a su observación al microscopio.

### **Resultados y discusión**

La observación de las preparaciones histológicas revelan la presencia de Tremátodos con unas prevalencias del 8% en la ría de Villaviciosa y del 1% en la ría del Eo, en ambos casos enquistados en el músculo del pie.

El bajo nivel de parasitación observado en todos los ejemplares muestreados, nos induce a pensar que su estado zoonosario no debería de ser causa de mortalidad o merma de repoblamiento por posible alteración o castración de la gónada.

## Subproyecto III: CANTABRIA

### Metodología

Las muestras se componen de 36 ejemplares, que son capturados por los mariscadores de las zonas de producción “a mano”, con salmuera. Los especímenes se reúnen en “mazos” de una docena de individuos manteniéndolos juntos atados con una goma elástica y se conservan en refrigeración hasta su entrega en el laboratorio, normalmente en un plazo de 2-3 h, para que lleguen vivos y sin ninguna alteración post captura. En la mañana siguiente, se procesan los especímenes de acuerdo con el siguiente protocolo:

1. Separación de la vianda de las valvas.
2. Corte transversal de la zona visceral, realizado con cuidado para evitar que se desgarre el tejido. Se obtienen así fragmentos de unos 5 cm. de longitud.
3. Fijación del fragmento obtenido para preservar la estructura del tejido de las alteraciones post-mortem y conferirle una firmeza que posibilite la obtención de “lonchas” más finas, de unos 2 mm de espesor. El proceso de fijación se completa en unas 24 h. Como solución fijadora, utilizamos el fijador de Davidson que tiene la siguiente composición (para un volumen de 1 litro):

- *200 ml de formaldehído al 40%*
- *100 ml de glicerol*
- *300 ml de alcohol al 96%*
- *300 ml de agua de mar filtrada*
- *100 ml de ácido acético glacial, añadido justo en el momento de usar el fijador.*

Una vez que se ha completado la fijación, se procede a la obtención de “lonchas” de unos 2 mm de espesor a partir del fragmento principal mediante el corte con una hoja de

microtomo y se introducen en un casete para cortes histológicos, se lavan con agua y se sumergen en alcohol de 70° a la espera de la siguiente fase.

4. Inclusión en parafina mediante el empleo de un horno microondas diseñado para su empleo en histotecnología:

- Deshidratación en un único baño de etanol absoluto (15 minutos a 67 °C).
- Aclaramiento en un único baño de isopropanol (15 minutos a 74 °C).
- Infiltración en parafina:
  1. 10 minutos a 67 °C.
  2. 20 minutos a 82 °C.

Finalizado el proceso, se introducen los casetes en un baño de parafina a 60 °C a la espera de la siguiente fase.

El empleo de un horno microondas tiene como ventajas, respecto de los procesadores automáticos convencionales, la rapidez del proceso (50 minutos), el ahorro de reactivos y la sustitución del xilol por el isopropanol, menos tóxico.

5. Formación de bloques de parafina.

Se extrae la muestra del casete y se introduce en un molde metálico con parafina líquida y se deja enfriar para que solidifique. De esta manera se obtienen bloques de tejido embebidos parafina. El procesado transcurre en un “centro formador de bloques”, compuesto por una consola que mantiene la parafina fluida a 60 °C, un dispensador de parafina líquida, una placa caliente para la orientación de las piezas y una placa refrigeradora para la solidificación de la parafina.

Los bloques permiten conservar la muestra indefinidamente y le confieren la consistencia necesaria para poder obtener cortes muy finos.

6. Obtención de cortes de 5 micras en el microtomo.

Los bloques de parafina se someten a la acción de una cuchilla muy afilada para obtener “tiras” de 5 micras de espesor. Para ello se utiliza un microtomo de rotación de accionamiento manual.

#### 7. Extensión de los cortes.

Las tiras obtenidas, formadas por varias secciones consecutivas del tejido, se trasladan a un baño de agua templada (40°C) donde se dejan flotar para permitir su extensión completa.

#### 8. Paso de los cortes al portaobjetos.

Las tiras son “pescadas” introduciendo en el agua un portaobjetos que se aproxima a uno de los extremos de la cinta y se extrae casi perpendicularmente de manera que se arrastre adherida a su superficie. A continuación se depositan sobre una placa caliente a 40 °C para que se sequen y adhieran firmemente. Finalmente se guardan en una estufa a 37 °C al menos 24 h, a la espera de la siguiente etapa.

#### 9. Desparafinado de los cortes.

La eliminación de la parafina es un paso previo imprescindible para poder llevar a cabo la tinción de los cortes. Para ello se colocan los portaobjetos que contienen los cortes en cestillos que se introducen en los siguientes “baños”:

- 1er baño de 10 minutos en xilol.
- 2º baño de 10 minutos en xilol.

#### 10. Hidratación de los cortes.

A continuación se procede al “rehidratado” de las preparaciones mediante inmersiones en soluciones de alcohol de graduación decreciente:

- Etanol de 100º: 5 minutos.

- Etanol de 100°: 5 minutos.
- Etanol de 96°: 5 minutos.
- Etanol de 60°: 5 minutos.
- Agua corriente (fluyendo muy suavemente): 5 minutos.

## 11. Coloración de los cortes.

La tinción diferencial de las distintas estructuras se consigue utilizando un colorante “nuclear”, la hematoxilina de Harris y otro “citoplasmático”, la eosina Y en solución hidroalcohólica. Utilizamos soluciones comerciales ya preparadas (Panreac, Merck) de acuerdo con el siguiente esquema:

- Hematoxilina: 2 minutos si está nueva. A medida que se usa, se va aumentando de 15 en 15 segundos. Se filtra siempre antes de su utilización.
- Agua corriente (fluyendo muy suavemente): 5 minutos.
- Eosina: 20 segundos si está nueva. Si no, 30 segundos.
- Lavar en agua corriente durante 5 segundos, introduciendo los portas en dos recipientes.

## 12. Deshidratación.

De nuevo se debe de deshidratar las preparaciones ya teñidas en soluciones alcohólicas de graduación creciente para posibilitar su montaje permanente:

- Etanol de 96°: 10 segundos.
- Etanol de 96°: 10 segundos.
- Etanol de 100°: 10 segundos.
- Etanol de 100°: 10 segundos.

## 13. Aclarado.

En esta fase se elimina el etanol mediante sucesivos “baños” en xilol:

- Xilol: 15 segundos.
- Xilol: se pueden dejar el tiempo necesario hasta el montaje.

#### **14. Montaje.**

Las preparaciones se protegen para su conservación a largo plazo cubriéndolas con un cubreobjetos que se adhiere al porta firmemente mediante un medio de montaje (DPX) que actúa como un “pegamento” transparente y con un índice de refracción semejante al del vidrio, adecuado para la observación microscópica. Para ello se depositan unas gotas del medio disuelto en xilol sobre el cubre y a continuación se coloca encima el portaobjetos, poniendo especial cuidado en que no queden burbujas de aire entre uno y otro. Finalmente se dejan secar en estufa a 37 °C 1-2 días antes de poder observarlas al microscopio.

#### **15. Observación mediante el microscopio óptico.**

### **Resultados y discusión**

Se observan los siguientes parásitos:

- *Nematopsis spp.*

Se han observado prevalencias próximas al 100% en los ejemplares capturados en S.Vicente de la Barquera, con intensidades de parasitación elevadas, algo menores en las hembras.

Por el contrario, en las capturas procedentes de la bahía de Santander la prevalencia rondaba el 10%.

La diferencia en la prevalencia puede estar relacionada con la zona de captura, con la época de captura o con ambas variables. Sería necesario realizar investigaciones adicionales para poder llegar a una conclusión válida.

- Trematodos.

Se han observado metacercarias y esporocistos en un escaso nº de ejemplares (alrededor del 6%) en ejemplares capturados en S. Vicente de la Barquera y en ninguno de los capturados en la bahía de Santander.

### Prevalencias:

- *Primer muestreo: bahía de Santander-Pedreña (octubre de 2004)*
- *Segundo muestreo: San Vicente de la Barquera (septiembre de 2004)*
- *Tercer muestreo: San Vicente de la Barquera (abril de 2005)*

(Tabla II)

	1er muestreo	2º muestreo	3er muestreo	Total
Nº de ejemplares	36	36	36	108
Ejemplares con nematopsis	3	34	35	72
Ejemplares con trematodos	0	2	2	4

Prevalencias				
Nematopsis	8%	94%	97%	67%
Trematodos	0%	6%	6%	4%

Figura 1

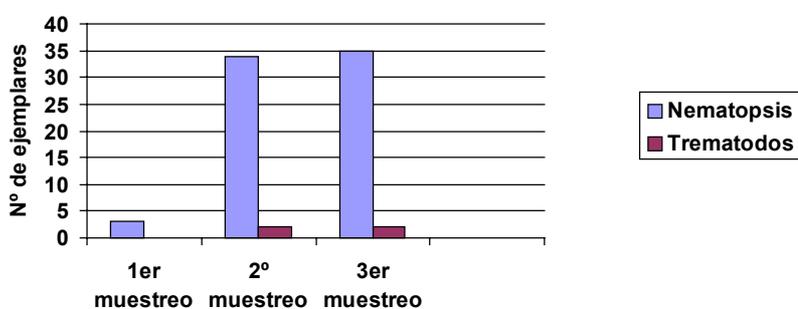


Fig. 10.- Número de ejemplares parasitados por nematopsis y trematodos en cada muestreo.

## Subproyecto IV: ANDALUCÍA

### Metodología

Se han realizado durante tres años un seguimiento trimestral de dos bancos naturales localizados en las dos zonas inicialmente elegidas: Río Piedras y Litoral Onubense frente a La Antilla (isobata de 10-15 m).

Tras cada muestreo, 30 ejemplares vivos se tallaron, pesaron y abrieron. Un trozo de branquia fue utilizada para el diagnóstico de *Perkinsus* mediante su incubación en medio fluido de tioglicolato suplementado con 20g/L de NaCl y 20 u.i./mL de penicilina G sódica y 40 µg/mL de sulfato de estreptomina. La incubación duró de 3 a 5 días en oscuridad, tiñéndose posteriormente las branquias con solución de lugol y observándose la posible presencia de prezoosporangios del parásito al microscopio óptico (Ray, 1952).

Dos secciones oblicuas del resto de la vianda conteniendo los principales órganos: branquia, palpos labiales, manto, pie, tubo y glándula digestiva, gónada, nefridio, glándula pericárdica y corazón fueron fijadas en Davidson (Howard, 1983) y procesadas hasta su inclusión en parafina. Secciones de 4 µm de cada ejemplar se tiñeron con hematoxilina de Ehrlich y eosina-floxina (H-E) (Luna, 1968). Tras el examen al microscopio óptico de las secciones de cada ejemplar, se anotó todas las alteraciones histopatológicas observadas así como la presencia de posibles agentes patógenos y otros simbiontes. Las prevalencias se establecieron en virtud de la observación del órgano afectado, es decir, si no fue posible observar la glándula digestiva en la sección de un ejemplar, éste no fue contabilizado para estimar la prevalencia de *Marteilia* sp., parásito que afecta principalmente a ese órgano. Excepcionalmente se realizaron frotis de tejidos frescos para localizar e identificar metazoos simbiontes presentes en la gónada, glándula pericárdica o tubo digestivo. El análisis de los datos de prevalencia y la generación de gráficos se ha realizado mediante el programa SPSS 12.0.

Igualmente y para identificar la especie de *Marteilia* detectada en algunas muestras se han realizado hibridaciones in situ utilizando el procedimiento descrito por Navas (Navas et al., 2001). Para ello se ha empleado una sonda marcada con digoxigenina generada a partir de DNA de *Marteilia refringens* utilizando los cebadores SAS1 y SS2 que amplifican una región de la subunidad 18 S del ADN ribosómico del parásito y que se considera válida tanto para *Marteilia refringens* como *maurini* (Le

Roux et al., 1999). Igualmente, se intentó amplificar, clonar y secuenciar una fracción del IGS del parásito aislado de longerones del río Piedras. utilizando utilizando los cebadores MT-1B y MT-2B que amplifican un fragmento de la región intergénica ribosomal (IGS) y que se consideran específicos de *Marteilia refringens* (López-Flores et al., 2004).

## Resultados y discusión

El seguimiento trimestral durante tres años de los dos bancos naturales inicialmente seleccionados ha reflejado los primeros datos sobre las principales patologías de *S. marginatus* presentes en el litoral onubense.

No se han encontrado evidencias de infecciones víricas. Por el contrario, sí se ha observado la presencia de estructuras tipo rickettsias en el epitelio del digestivo, en especial de la glándula digestiva (figura 11.A). Su prevalencia global fue del 74 % en el río Piedras y del 10,1% en el banco natural frente a La Antilla. Infecciones bacterianas en las branquias caracterizadas por la formación de grandes acumulaciones envueltas de tejido fibrilar (figura 11.B), conocidas en otros bivalvos como “Bolas bacterianas” (Joly, 1982) fueron localizadas en el 23,4 % de los ejemplares del río Piedras y en el 8,8 % de los longerones de La Antilla.

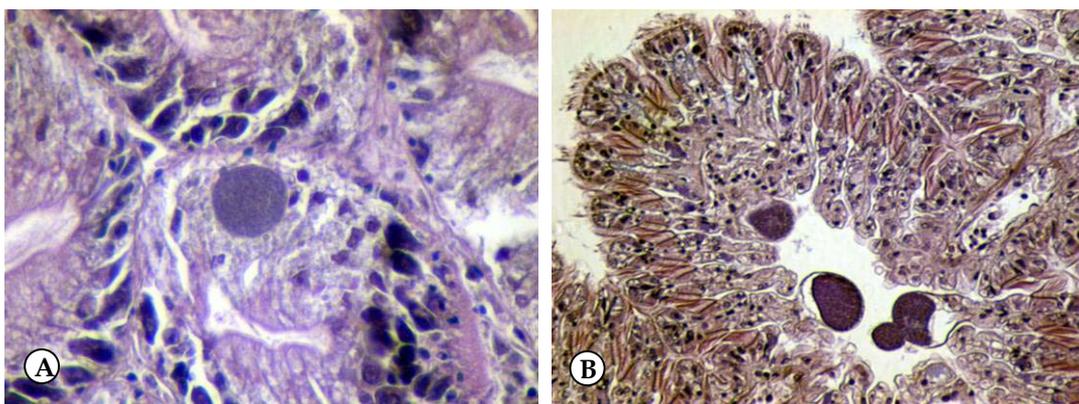


Fig.11. A, Presencia de estructuras tipo rickettsias en el epitelio de la glándula digestiva de *S. marginatus*. B, Bolas bacterianas en branquias de *S. marginatus*

Igualmente, fue posible observar la presencia lesiones en el epitelio digestivo asociadas a la presencia de colonias bacterianas de morfología bacilar (figura 12.A), aunque con muy baja prevalencia (0,3 % en el río Piedras y 1,2 % en La Antilla).

La presencia de ciliados, en especial *Trichodina* sp. (figura 12.B), en las branquias, manto y palpos labiales fue detectada en el 6,0 % de los ejemplares del río Piedras y en el 2,0 % de La Antilla.

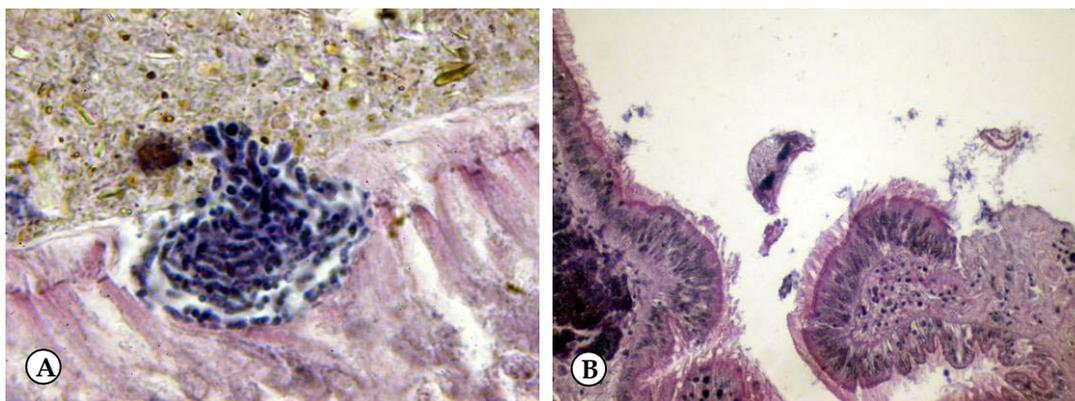


Fig. 12.- A, Lesiones en el epitelio digestivo de *S. marginatus* provocadas por una infección bacteriana. B, *Trichodina* sp. en palpo labial de *S. marginatus*

Oocysts de *Nematopsis* sp. fueron localizados en el conectivo del digestivo con muy baja prevalencia tanto en el río Piedras (0,5 %) como en La Antilla (0,6 %).

Mediante el método del tioglicolato fue posible observar en las branquias estructuras aisladas similares a prezoosporangios de *Perkinsus* sp. con una escasa prevalencia: 2,6 % en el río Piedras y 1,1 % en La Antilla. Sin embargo, no ha sido posible confirmar su presencia mediante la observación de trofozoitos en las secciones histológicas, por ello, este diagnóstico no puede ser considerado como positivo.

La presencia de *Marteilia* sp. ha sido confirmada histológicamente (figura 13.A) con una prevalencia significativamente superior en el río Piedras ( 20,4 %) frente a La Antilla (1,5 %). La hibridación in situ utilizando la sonda SS1-SAS2 de *Marteilia refringens/maurini* mostró una señal claramente positiva (figura 13.B). La amplificación de parte de la región IGS utilizando los cebadores MT-1B y MT-2B, su clonación y secuenciación ha permitido confirmar la presencia de *Marteilia refringens* en *S. marginatus* del río Piedras, si bien no se descarta la posibilidad de que puedan estar presentes también otras especies de *Marteilia* (López-Flores et al., 2005)

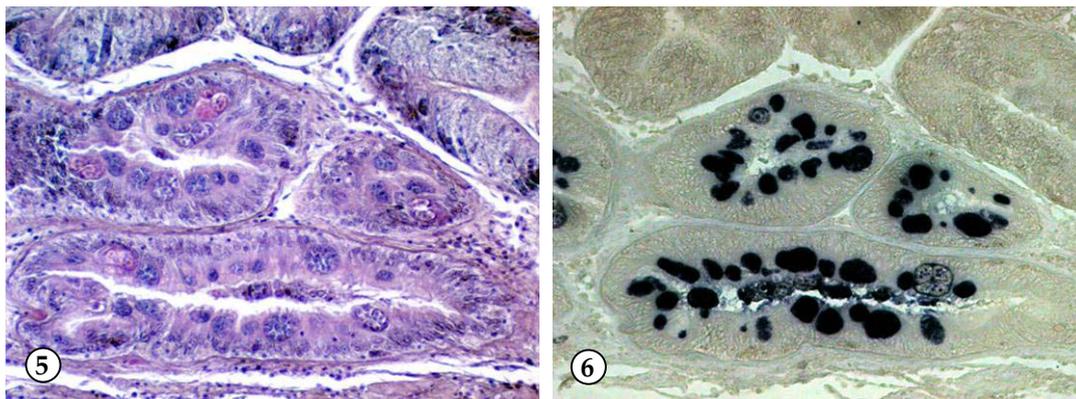


Fig.13.- A, *Marteilia sp.* en glándula digestiva de *S. marginatus* del río Piedras. B, Corte seriado al anterior sometido a hibridación con la sonda SAS1-SS2 y mostrando la clara señal positiva de *Marteilia sp.*

La evolución de las prevalencias de los organismos mencionados anteriormente se resume en las figuras 14 y 15.

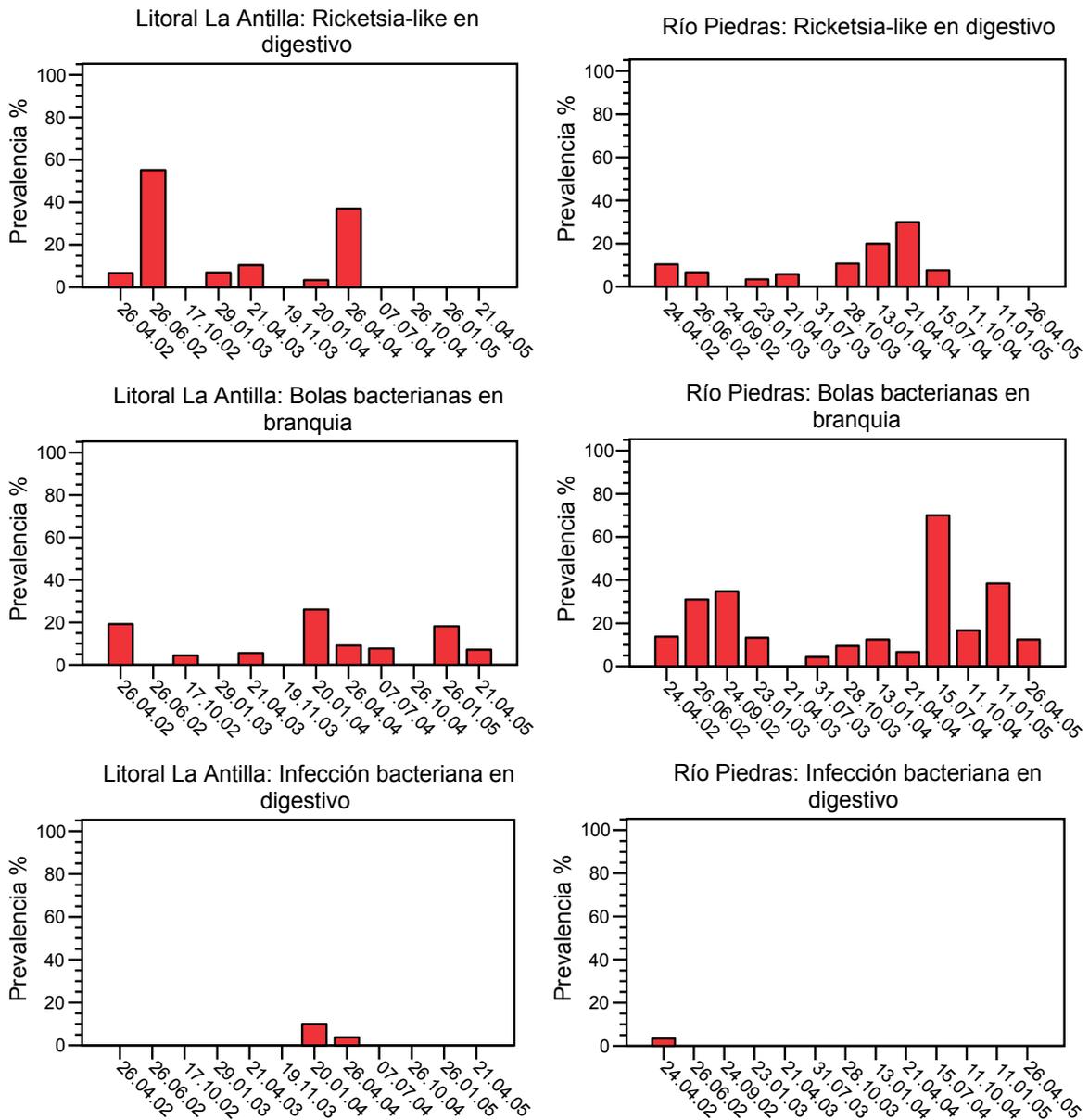


Fig. 14.- Graficas de la evolución de la prevalencia de organismos tipo rickettsias en glándula digestiva, bolas bacterianas en branquia e infecciones bacterianas en el digestivo de *S. marginatus* en dos bancos naturales del litoral onubense.

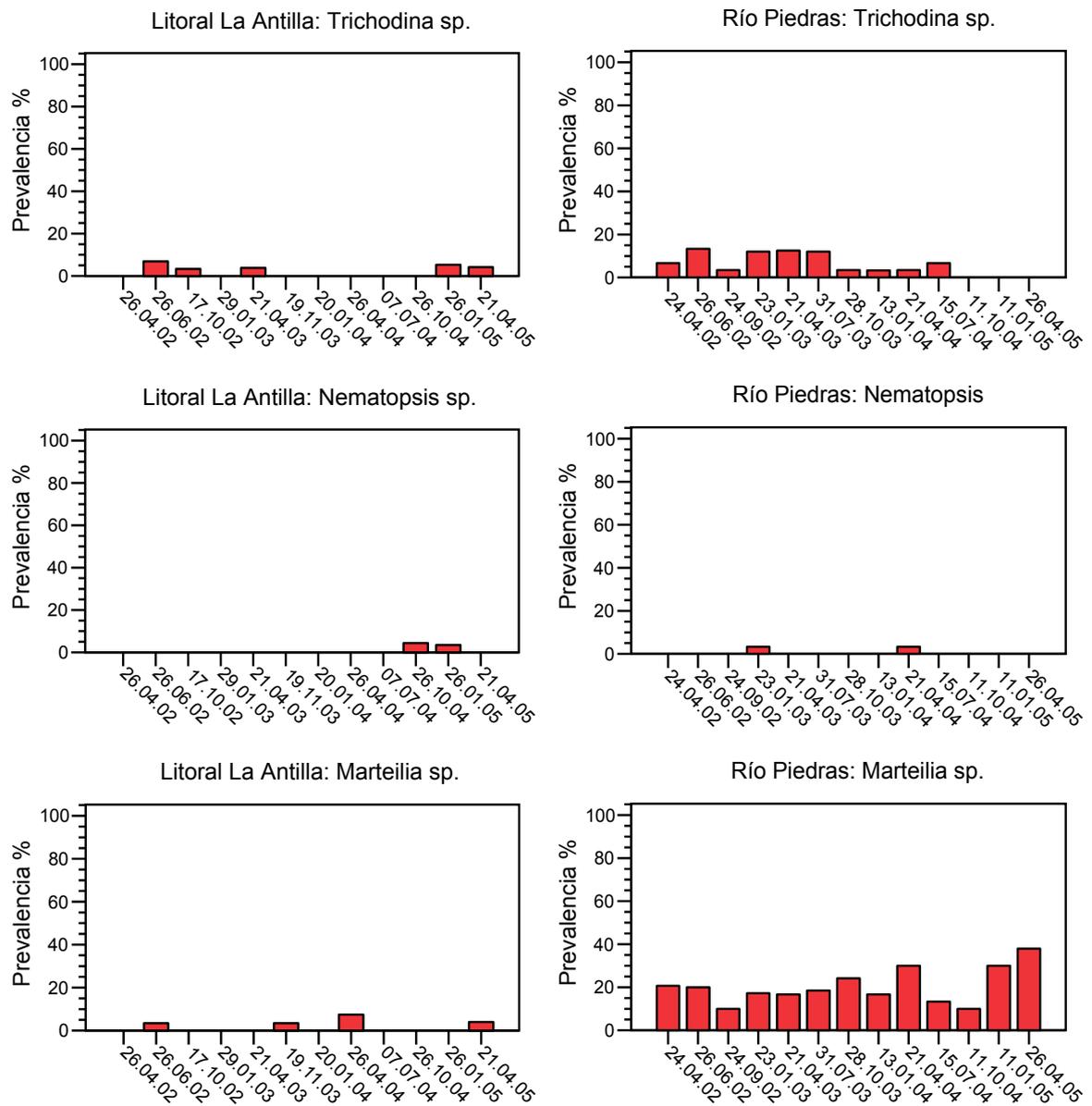


Fig. 15.- Gráficas de la evolución de la prevalencia de *Trichodina* sp., *Nematopsis* sp. y *Marteilia* sp. en *S. marginatus* de dos bancos naturales del litoral onubense.

Respecto a los metazoos, destaca la presencia de quistes de metacercarias localizados principalmente en la glándula pericárdica de los longerones del río Piedras (30,7 %). Estos quistes esféricos, de 140-160 micras de diámetro, contenían una metacercaria con corona de 29-31 espinas típica del género *Himasthla* (figuras 16.A, 16.B, 16.C, 16.D).

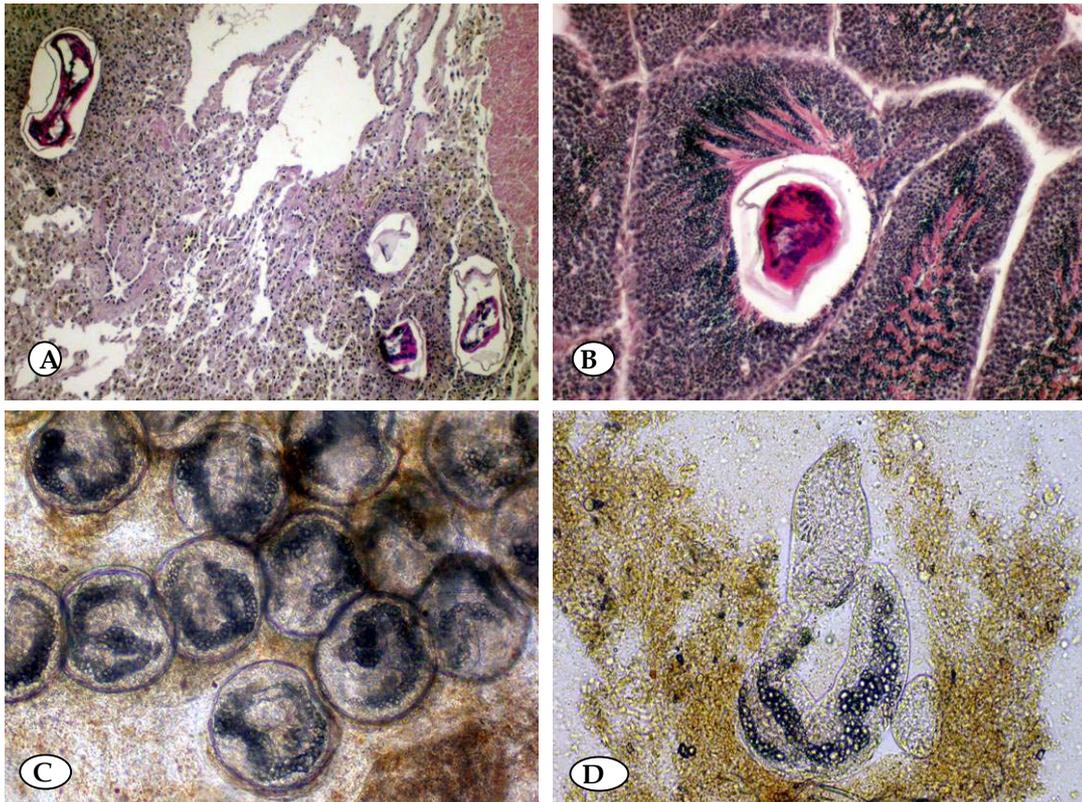


Fig. 16.- A, Quistes de metacercarias de *Himasthla* sp. en la glándula pericárdica de *S. marginatus* del río Piedras. B, Ídem en gónada. C, Ídem en frotis fresco de la glándula pericárdica. D, Frotis con quiste roto mostrando la metacercaria con su corona de espinas típica del género.

Esporocistos de *Bacciger* sp. fueron observados en el 2,2 % las secciones histológicas de los longerones del río Piedras; 3 de los 8 casos observados motivaron la castración parasitaria del bivalvo (figuras 17.A y 17.B). La evolución de las prevalencias se muestra en la figura 18. Ni las metacercarias de *Himasthla* sp. ni los esporocistos de *Bacciger* sp. fueron detectados en la población de La Antilla.

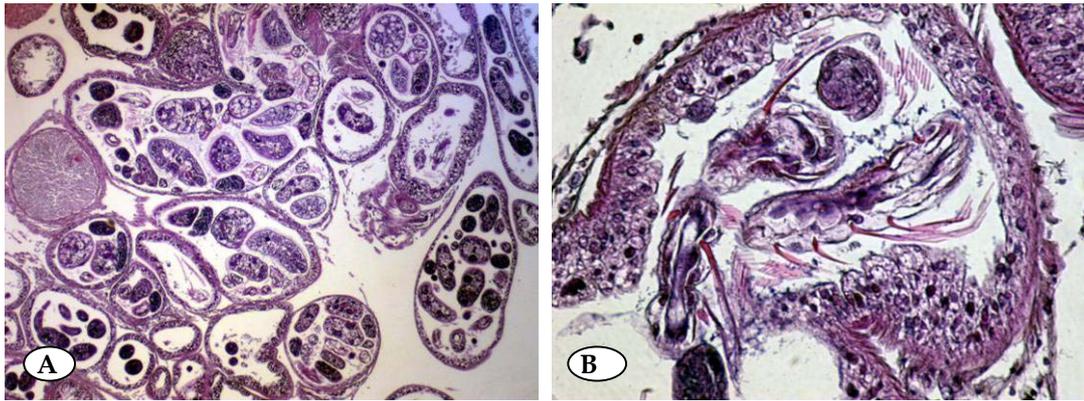


Fig. 17.- A, Esporocisto de *Bacciger* sp. causando castración parasitaria en *S. marginatus* del río Piedras. B, Detalle mostrando la cola de una cercaria

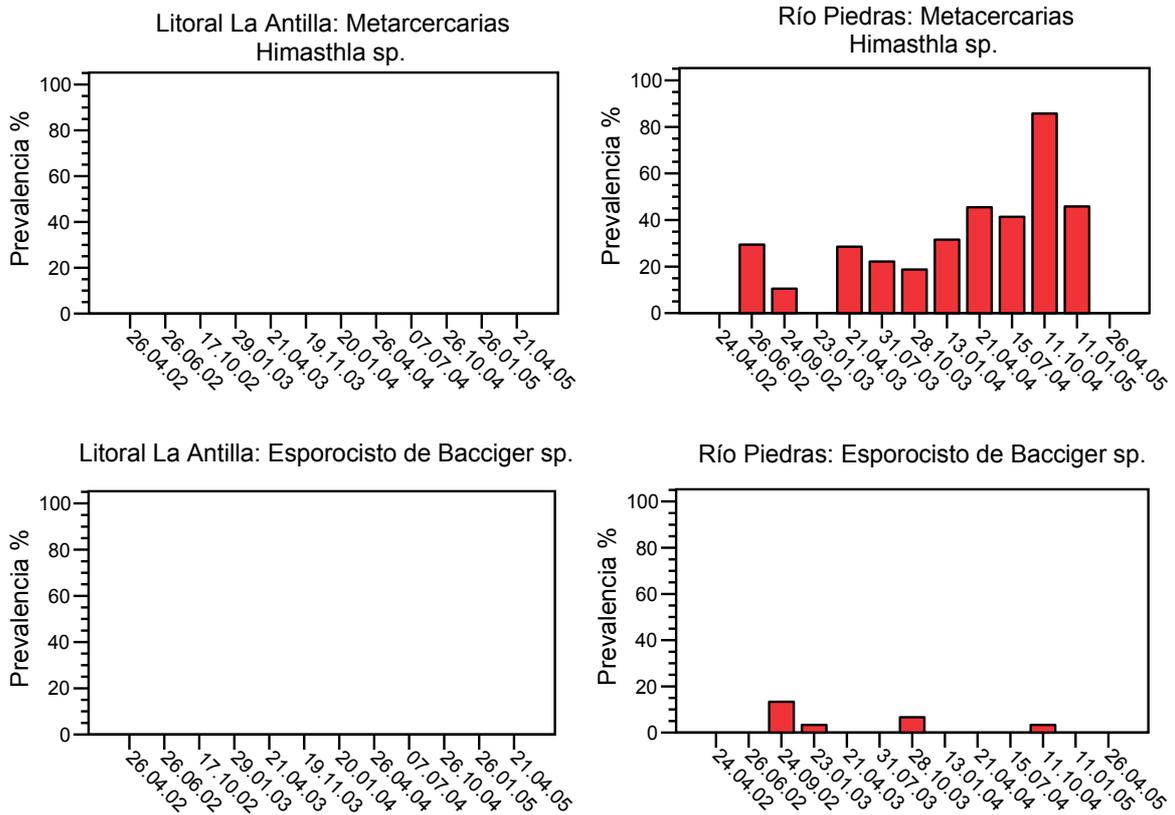


Fig.18.- Graficas de la evolución de la prevalencia de metacercarias de *Himasthla* sp. y esporocistos de *Bacciger* sp. en *S. marginatus* de dos bancos naturales del litoral onubense.

Turbelarios, probablemente del género *Paravortex*, se encontraron con una prevalencia del 26,3 % y del 12,4 % en el río Piedras y La Antilla respectivamente (figuras 19.A y 19.B). Excepcionalmente se pudo detectar la presencia de nematodos no clasificados en el manto y la masa visceral de los longerones tanto del río Piedras (0,5%) como de La Antilla (0,9%) (figuras 19.C y 19.D). La figura 20 resume las prevalencias de ambos simbios.

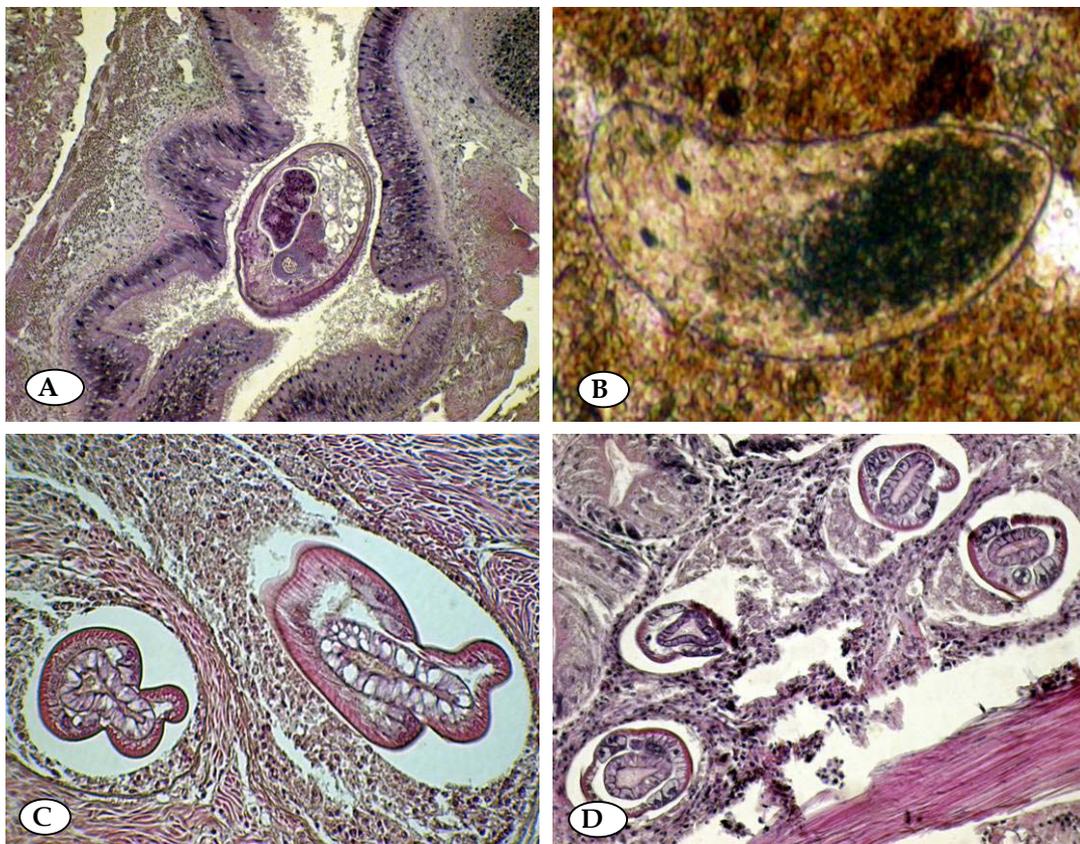


Fig.19.- A, Turbelario (*Paravortex* sp.) en el digestivo de *S. marginatus*. B, *Paravortex* sp. en frotis del contenido estomacal. C, Nematodo no identificado en el manto de *S. marginatus*. D, Nematodo en la glándula digestiva de bivalvo.

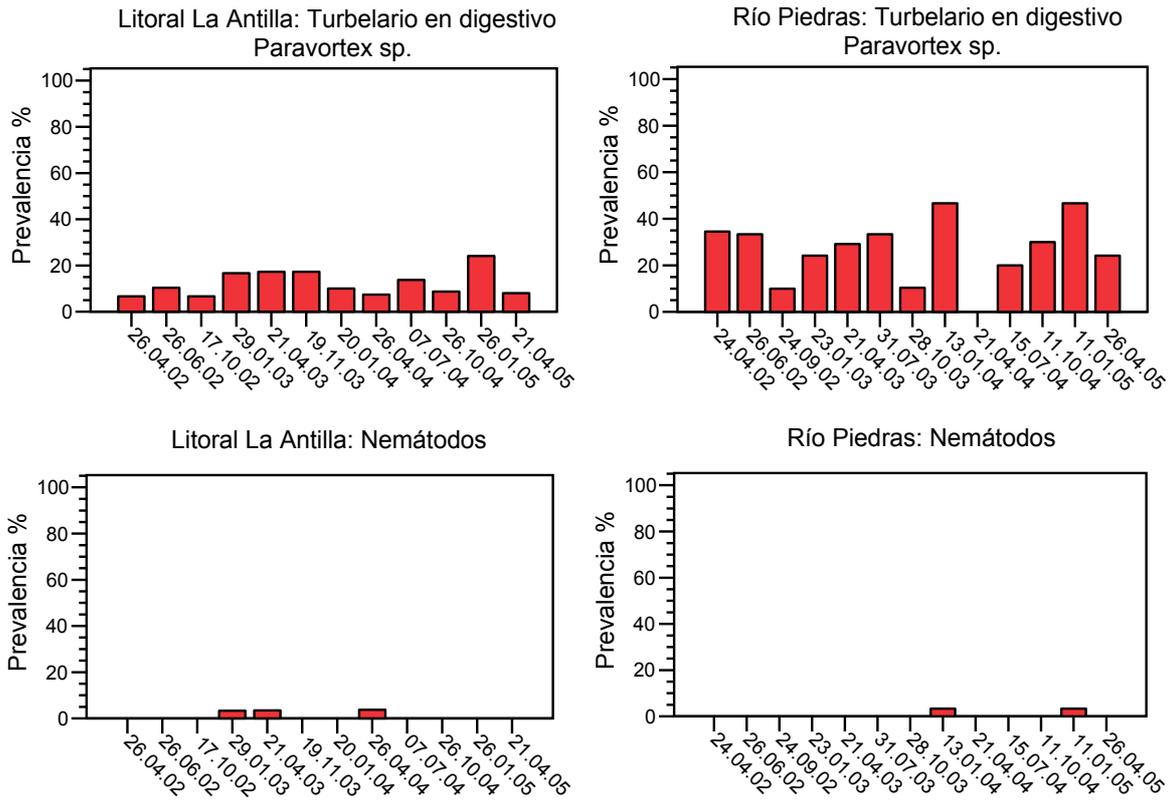


Fig.20.- Graficas de la evolución de la prevalencia de turbelarios (*Paravortex* sp.) y nematodos sin identificar en *S. marginatus* de dos bancos naturales del litoral onubense.



**LÍNEA III: OBTENCIÓN DE SEMILLA EN CRIADERO Y  
PREENGORDE EN SEMILLERO**

### **Línea III: PUESTA A PUNTO Y DESARROLLO DE TÉCNICAS Y PROTOCOLOS PARA LA OBTENCIÓN DE SEMILLA EN CRIADERO Y PREENGORDE EN SEMILLERO**

#### RESUMEN

A lo largo de este proyecto se ha conseguido poner a punto técnicas para la correcta estabulación y acondicionamiento de reproductores, inducción a la puesta, cultivo de larvas, postlarvas y semilla en criadero de las 3 especies.

La inducción a la puesta en *Solen marginatus* no se ha logrado por ninguno de los métodos ensayados (choque térmico, flujo de agua tratada con ultravioleta, raspado de las gónadas y mezclando los gametos), recogiendo desoves el día posterior a la inducción. Por el contrario en *Ensis siliqua* la inducción por choque térmico ha sido efectiva. En *E. arcuatus* se ha puesto a punto un método de manteniendo la temperatura de agua como en el medio natural y modificando el nivel del agua, con breves períodos de desecación, simulando mareas. Esto limitó la producción de larvas de estas especies, no asegurando un aporte continuo de puestas para la producción.

La estabulación de reproductores se ha realizado en tanques con arena, mostrando altas supervivencias frente a los individuos atados con gomas a varillas. Las experiencias de acondicionamiento con las 3 especies en distintas épocas del año han permitido saber que lo mas adecuado sería comenzar desde inicio de la gametogénesis, consiguiendo adelantar la puesta 1 ó 2 meses. Este sistema ha logrado supervivencia de los reproductores superiores al 90 %. Se hace necesario mejorar las técnicas de acondicionamiento para ampliar la época de obtención de desoves, probando alimentación y distintos regímenes de temperatura y fotoperíodo.

Basándonos en las experiencias realizadas y en las condiciones empleadas ( $19\pm 1^{\circ}\text{C}$ , dieta compuesta por *T. suecica*, *I. galbana*, *P. lutheri* y *C. calcitrans* en proporción 1:1:1:1) el cultivo larvario el longueirón vello (*S. marginatus*) fija a una talla de 350  $\mu\text{m}$  a los 8-9 días de cultivo, mientras la navaja (*E. arcuatus*) lo hace a los 20 días y el longueirón (*E. siliqua*) a los 14 días, en ambos casos con una talla de unas 400  $\mu\text{m}$ . Las mejores supervivencias se logran con *E. siliqua* y *S. marginatus*. La fase de cultivo larvario no presenta ningún problema que limite la viabilidad del cultivo.

*S. marginatus* alcanza una mayor longitud al mes de vida (1,7 mm) frente al 1 mm de las dos especies de *Ensis*, pero tras 120 días la mayor talla se alcanza con *E. arcuatus* con 30 mm, y en las otras especies cultivadas en este estudio fue de 20 mm. En

las 3 especies se ha llegado hasta una talla superior a 20 mm en longitud que ha permitido la siembra en el medio natural. El problema de esta fase es cuando las postlarvas llegan a 1 mm, en donde se producen grandes mortandades, por lo que habría que estudiar el sistema a emplear.

Se puede concluir que:

- La obtención de puestas es más fácil en las 2 especies de *Ensis*, frente a *S. marginatus*.
- Acondicionamiento. Se consigue adelantar 2 meses en las tres especies frente al medio natural.
- Cultivo larvario. No presenta problemas, logrando con *Solen* las mejores supervivencias debido al corto período larvario.
- Cultivo de postlarvas y semilla. Es limitante en el cultivo la fase desde 1 mm. Se hace necesario acortar el tiempo de permanencia en el criadero.

## Informe por Subproyectos:

### Subproyecto I: GALICIA

#### Metodología

En Galicia se ha trabajado con las tres especies: *Ensis arcuatus*, *Ensis siliqua* y *Solen marginatus*. Para el acondicionamiento se utilizaron tanques con una capacidad de 200 litros, rectangulares de fibra de vidrio, con un área de 95 x 60 cm y una altura de 45 cm, y desagüe en la parte superior. Los reproductores se mantuvieron con una capa de arena de grano medio-fino de unos 30-40 cm de espesor. Los tanques estaban en circuito abierto, con un flujo de agua de 18 litros/hora y con un sistema de aireación. La alimentación consistió en una dieta mixta compuesta por: *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricorutum* y *Skeletonema costatum*.

En nuestro criadero para la estimulación los individuos se mantenían en recipientes adecuados en vertical atados individualmente a varillas de vidrio por medio de gomas.

En nuestro caso el cultivo de larvas se realizó en tanques troncocónicos de fibra de vidrio de 150 y 500 litros, en los que se utilizaba una densidad inicial de 5 huevos fecundados/ml, hasta 1-2 postlarvas/ml en la metamorfosis. El cambio de agua se realizó tres veces a la semana con agua filtrada por filtro de arena y esterilizada por ultravioleta. La temperatura de cultivo se mantuvo en  $19\pm 1^{\circ}\text{C}$ . La dieta estaba compuesta por *T. suecica*, *I. galbana*, *P. lutheri* y *C. calcitrans* en igual proporción y la alimentación fue diaria. Se comienza la alimentación en el día 1 (larva D) con una ración de 40 células/ $\mu\text{l}$ , aumentándose paulatinamente hasta 80 células/ $\mu\text{l}$  en la metamorfosis.

El paso de la fase natátil larvaria a sésil (postlarva) se realiza en tanques troncocónicos de 150 litros en cilindros con malla de 150  $\mu\text{m}$ , con una fina capa de arena de grano medio-fino. El flujo de agua es forzado por “air-lift” de arriba a abajo. El cambio de agua se realizó tres veces a la semana. Una vez la semilla alcanzó los 10 mm, esta fue trasvasada a tanques rectangulares de 200 litros, con una capa de arena de grano medio-fino en el fondo de 10 cm de espesor, donde se mantuvo hasta la siembra. Los

tanques se mantuvieron en circuito abierto, la dieta suministrada contenía *T. suecica*, *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. calcitrans*, *P. tricornutum* y *S. costatum* en proporciones iguales.

## **Resultados y discusión**

Traslado de reproductores al criadero.- Se han desarrollado métodos para el correcto transporte de reproductores al criadero, los cuales deben atarse con gomas, para prevenir la apertura de las valvas, ir envueltos en paños húmedos en agua de mar y mantenerlos refrigerados.

Inducción a la puesta.- En *Solen marginatus* y *Ensis arcuatus* no se ha logrado ni por choque térmico con adicción de microalgas, ni con flujo de agua tratada con ultravioleta ni raspando las gónadas y mezclando los gametos. En *E. siliqua* la inducción por choque térmico fue efectiva logrando la emisión de gametos maduros tras 2 horas desde el inicio de la inducción.

Estabulación y acondicionamiento.- La estabulación de progenitores en estas especies, ya que necesitan sustrato, se ha realizado con arena comúnmente para mantener las valvas cerradas. Pero la arena presenta inconvenientes ya que se pierden gran cantidad de huevos en la superficie de la arena, puesto que la tendencia de éstos es a permanecer en el fondo, además de una recogida de las puestas con suciedad. Para ello se ha desarrollado un método alternativo de mantenimiento, atando los ejemplares individualmente a varillas de vidrio por medio de gomas, previniendo el que las valvas se abran, y permitiendo una adecuada movilidad de los individuos para evitar causarles el estrés. Se realizaron pruebas de acondicionamiento sin sustrato pero las supervivencias no fueron las óptimas. A partir de 10-15 días comienza a descender la supervivencia, con lo que no es adecuado para pruebas de acondicionamiento, pero si estabulando progenitores para inducir la puesta.

Se ha logrado saber tras realizar experiencias de acondicionamiento en las 3 especies en diferentes épocas del año y partiendo de diferentes momentos del desarrollo gonadal que desde reposo no es posible adelantar significativamente la maduración. Lo más adecuado sería comenzar el acondicionamiento desde inicio de la gametogénesis, consiguiendo adelantar la puesta 1 ó 2 meses. Este sistema ha logrado supervivencia de los reproductores superiores al 90 %.

Además se ha comprobado que con respecto al medio natural el acondicionamiento de *S. marginatus* no afecta a la calidad de las puestas, ni al desarrollo larvario, postlarvario y de semilla medido en términos de crecimiento y supervivencia.

Cultivo larvario.- El longueirón vello (*S. marginatus*) fija a una talla de 350  $\mu\text{m}$  a los 8-9 días de cultivo, mientras la navaja (*E. arcuatus*) lo hace a los 20 días y el longueirón (*E. siliqua*) a los 14 días, en ambos casos con una talla de unas 400  $\mu\text{m}$ . Las tasas de supervivencia han sido mejores en *S. marginatus* alcanzando valores de hasta 80,71 %, con una media de 31,27 %. Esto se explica por su corto desarrollo larvario, al partir de un huevo con 150  $\mu\text{m}$ , con muchas reservas, le permite un desarrollo más corto y mejorar la supervivencia. El longueirón (*E. siliqua*) a lo largo de los diferentes cultivos ha presentado viabilidades larvarias variando entre 20,02 y 52,69 %, con una media de 39,49 %. La navaja (*E. arcuatus*) ha sido la especie, que dado su largo período de puestas en el medio natural, se han realizado más cultivos larvarios. Las supervivencias larvarias para esta especie han variado desde 4,86 y 24,84 %, con una media de 16,18 % a lo largo de las distintas experiencias realizadas.

Con *S. marginatus* se hizo una prueba para determinar el tiempo que podían aguantar las larvas sin alimentarse y una vez alimentadas de nuevo ser capaces de alcanzar la fijación. La hipótesis de partida es que debido al gran contenido en reservas lipídicas y al gran tamaño de los ovocitos quizás no fuese necesario alimentar las larvas a lo largo del desarrollo larvario, o incluso esto podría ser perjudicial. Se dispusieron 3 lotes de larvas por duplicado, a unas se las alimento desde el día 1 (Larva D veliger), otras desde el día 4 y otras no se las alimentó nunca a lo largo de la experiencia. Las alimentadas desde el día 1 fijaron el día 7 con una supervivencia del 29,66 %, las no alimentadas los 4 primeros días alcanzaron la fijación en un 16,19 % el día 10 (a los 4 días aun nadaban activamente y al darle el alimento comenzaron a alimentarse y crecer) y las no alimentadas murieron el día 14. Esto demuestra la necesidad de alimentar las larvas de esta especie y además que el contenido de reserva de los ovocitos permite cierto periodo de ayuno.

Cultivo postlarvario y de semilla.- Para la optimización del proceso de fijación se han realizado experiencias con recipientes distintos; y con y sin sustrato. Los mejores resultados hasta 1 mm en las 3 especies (1 mes de vida aproximadamente) se han

conseguido sin sustrato. Esto es debido a que se podían tamizar cada 2 días, eliminando las muertas, evitando las proliferaciones bacterianas. Sin sustrato los mejores resultados en supervivencia se han logrado con recipientes de menor tamaño (menor área), frente a los de mayor área donde las postlarvas estaban más dispersas. Esto coincide con la fase en la que empiezan a alargarse y como consecuencia de esto adquieren el aspecto de los adultos.

Al alcanzar este mes de vida deben pasarse a recipientes de los mayores y con una fina capa de arena que irá aumentándose en función del crecimiento de los cultivos. El problema de la arena es el manejo de grandes cantidades de semilla.

La fijación en *S. marginatus* se alcanza a los 8 días de cultivo con una talla de 350 µm, lográndose la fijación a los 14 días en *E. siliqua* y a los 20 días en *E. arcuatus* con una talla de 400 µm en ambos casos.

Al sufrir la metamorfosis antes en *S. marginatus* le permite alcanzar mayor longitud al mes de vida (1,7 mm) frente al 1 mm de las dos especies de *Ensis*. Es a partir del mes de vida cuando comienzan a alargarse y adquirir el aspecto característico de los adultos en las 3 especies. Pero tras 120 días la mayor talla se alcanza con *E. arcuatus* con 30 mm, y en las otras especies cultivadas en este estudio fue de 20 mm (Figura 21).

El crecimiento en ancho de las 3 especies fue similar durante todo el estudio. Por el contrario, el peso durante los primeros 90 días de cultivo fue parecido en las 3 especies, y a partir de ahí en *E. arcuatus* el peso fresco total alcanzado fue superior debido al mayor incremento en longitud.

El cultivo de estas especies en criadero es posible, pero aun hay problemas que solucionar. El cultivo de solénidos está limitado debido a la necesidad de los individuos de estar enterrados en la arena y que son bastante sensibles a la manipulación. Se debe investigar más para determinar hasta que talla se puede hacer el cultivo sin sustrato. La eliminación del sustrato permitiría un manejo más fácil de la semilla.

En *S. marginatus* hay distintos seguimientos de cultivos postlarvarios y de semilla, con una supervivencia desde la fijación de entre 6 y 66 % para los 40 días postfertilización (dpf), media de 27,28 %, con una talla de 2 mm. La mejor supervivencia encontrada antes de la siembra en el medio natural a los 120 dpf fue de 3,16 % con respecto a la fijación y una talla de 20,65 mm. Para la navaja (*E. arcuatus*) se logró alcanzar a los 98 dpf los 11 mm con una supervivencia de 3,8 % y en el longueirón (*E. siliqua*) una supervivencia de 2,19 % a los 119 dpf con una talla de 20 mm.

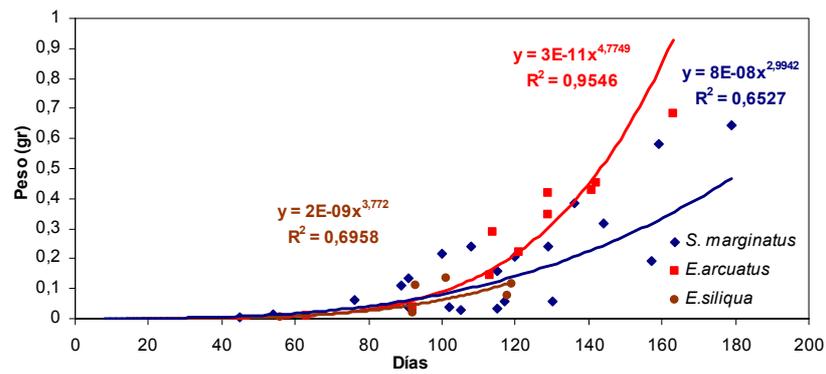
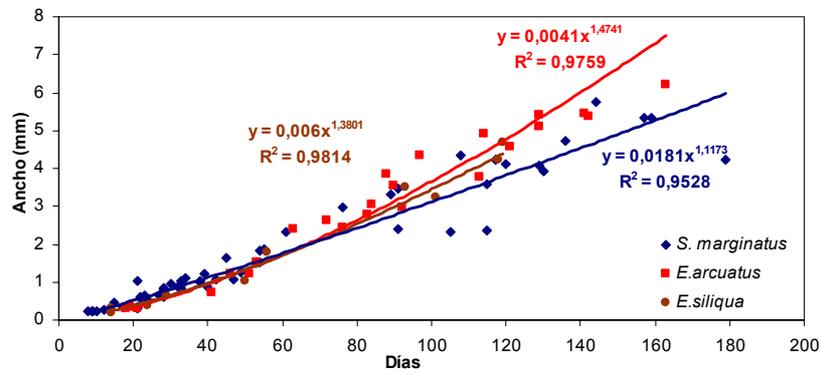
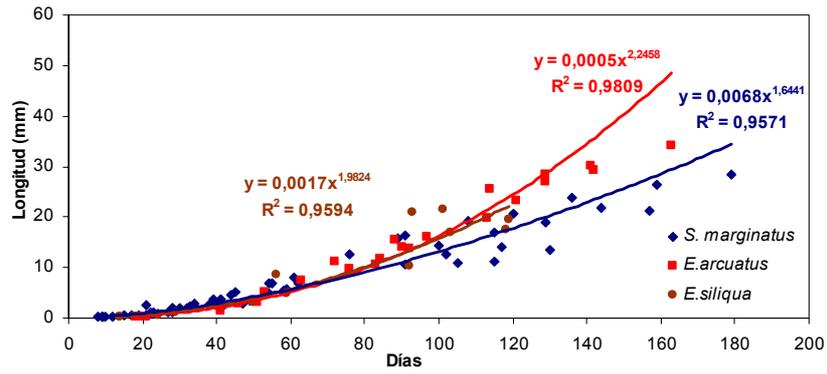


Fig. 21. Crecimiento de postlarvas y semilla a lo largo del cultivo de *Ensis arcuatus*, *E. siliqua* y *Solen marginatus*. A) Crecimiento en longitud. B) Crecimiento en ancho. C) Crecimiento en peso.

## **Subproyecto II: ANDALUCIA**

### **Metodología**

En Andalucía se ha trabajado con la especie *Solen marginatus*.

### **ACONDICIONAMIENTO**

En el 2003 se probaron diversos métodos de acondicionamiento de reproductores (sin sustrato, individuos atados en mazos) pero no dieron resultado.

Para la obtención de puesta durante todo el 2004 y hasta Julio del 2005 cada mes se ha recibido un lote de longuerones (*Solen marginatus*) y se han sometido a las condiciones de estabulación habitual, se mantuvieron en tanques rectangulares de 70 l. y 200 l. con sustrato de arena de aproximadamente 25 cm, circuito abierto de agua filtrada por 25  $\mu\text{m}$  a  $20\pm 1^\circ\text{C}$ , flujo de 1 l./min, fotoperiodo natural y alimento de criadero basado fundamentalmente en *Phaeodactylum tricornutum*, *Tetraselmis suecica* y *Skeletonema costatum*. Se pretende ver si sometiendo a los individuos a condiciones distintas a las del medio, se modifica la época natural de puesta.

### **PUESTA**

Para la obtención de puestas se han ensayado varios sistemas de inducción. Durante el 2003 se probó con serotonina y choque térmico colocando los individuos horizontalmente en bandejas y verticalmente en tanques sin obtener puestas.

En el último año de proyecto además de las puestas naturales obtenidas se han probado sistemas de inducción basados en choque térmico: 3 Tratamientos: frío ( $0^\circ\text{C}$ ) –  $24^\circ\text{C}$ ,  $0^\circ\text{C}$  –  $26^\circ\text{C}$  –  $20^\circ\text{C}$  y  $20^\circ\text{C}$  –  $26^\circ\text{C}$ .

Durante los años 2004 y 2005 se han recogido puestas naturales. Para ello se han colocado concentradores de 60  $\mu\text{m}$  de luz de malla en los desagües de cada tanque de reproductores. Durante 2004 y 2005 se ha llevado a cabo un registro de puestas por día y por lotes.

### **CULTIVO LARVARIO.**

Durante el 2004 se ensayaron distintas experiencias combinando densidades, dietas y temperaturas sin resultados satisfactorios. Hubo mortalidad en todas las experiencias.

Para llevar a cabo el desarrollo embrionario se han empleado tanques de 200 l. con fondo plano. Durante 24–48 horas se mantuvieron los ovocitos fecundados en estos tanques con circuito cerrado de agua filtrada a 1µm , aireación suave, temperatura de 20±1°C con adición de *Isochrysis galbana* (T-Iso). La densidad de cultivo nunca fue mayor de 6.250 larvas/l. En este tiempo se ha pasado de ovocito a larva veliger con forma en D.

Para el desarrollo larvario se han empleado tanques cilindrocónicos de 150 l., circuito cerrado de agua filtrada a 1µm, aireación, temperatura de 20±1°C, con una densidad máxima de 5.800 larvas/l. y alimentación basada en una mezcla de microalgas: T-Iso, *Chaetoceros calcitrans* en proporción 1:1, hasta la transformación en postlarvas (aparición del pie), que ocurrió en 7 – 8 días desde el inicio de la puesta. Se obtuvieron datos de supervivencia y crecimiento larvario hasta postlarvas.

#### CULTIVO POSTLARVARIO.

Para el cultivo de postlarvas se han usado tanques cilíndricos de fondo plano de 300 l. con concentradores en la parte superior. En éstos se ha colocado un sustrato de arena de tamaño de grano apropiado a la luz de malla y al tamaño de los ejemplares, imprescindible para que los longuerones mantengan sus valvas cerradas. El circuito de agua también es cerrado con un sistema *air-lift* de flujo descendente. El agua está filtrada a 1µm. La temperatura también es de 20±1°C, la alimentación aportada ha sido una mezcla de algas: T-Iso: *Chaetoceros calcitrans*: *Tetraselmis suecica*: *Phaeodactylum tricornutum* en proporción 1:1:1:1.

Se han probado dos tallas de semillas para ver la más idónea para sacar longuerones a circuito abierto, así como distintas densidades de siembra y dos sistemas de estabulación, un tanque de 500 l. con sustrato de arena y otro tanque formado por un sustrato de grava en la parte inferior, cubierto por una lámina de “geotextil” y una capa de arena en la superior. Mediante un sistema de *air-lift* se crea una corriente descendente de agua que recircula a través de las dos capas de sustrato, actuando como filtro biológico.

Ejemplares de longuerón (*S. marginatus*) de 9,03±1,71 mm, procedentes de los cultivos postlarvarios, se sembraron en distintos sistemas de cultivo: cultivos en bandejas con fondo de malla incluidas en tanques 80 litros, Cultivos con sistema *race-way*, con fondo de arena, en bandejas de 40 litros, en tanques de 1 m<sup>3</sup> y tanque de 300 litros en contenedores de 40 cm de Ø con circuito cerrado (cultivo postlarvario).

Estos sistemas disponen del mismo método de alimentación: aporte continuo de fitoplancton compuesto de mezcla de especies: *T. suecica*, *P. tricornutum*, *S. costatum*. En todos los casos la temperatura del agua ha sido la del ambiente (18-20 °C).

Debido a que durante esta etapa del cultivo se producen mortalidades por el manejo de los individuos, los muestreos de las semillas se han espaciado lo más posible en el tiempo: 53, 95 y 136 días desde el comienzo del cultivo.

## Resultados y discusión

### ACONDICIONAMIENTO

El sistema de acondicionamiento que ha reportado mejores resultados para esta especie en cuanto a supervivencia ha sido su estabulación en tanques de 70 y 200 l. con un horizonte de arena y régimen abierto de agua a  $20\pm 1$  °C de temperatura, filtración a 25  $\mu\text{m}$  y alimentación basada en el aporte continuo de diferentes especies de microalgas. La densidad de estabulación en nuestro caso, ha propiciado mortalidades cuando superó los 200 ind./m<sup>2</sup>. La estabulación de reproductores en condiciones adecuadas durante los diferentes meses del año no ha producido puestas en épocas diferentes de la natural.

### PUESTAS

Las puestas naturales obtenidas durante 2004 y 2005 procedentes de los individuos estabulados en el criadero se recogen en la figura 22.

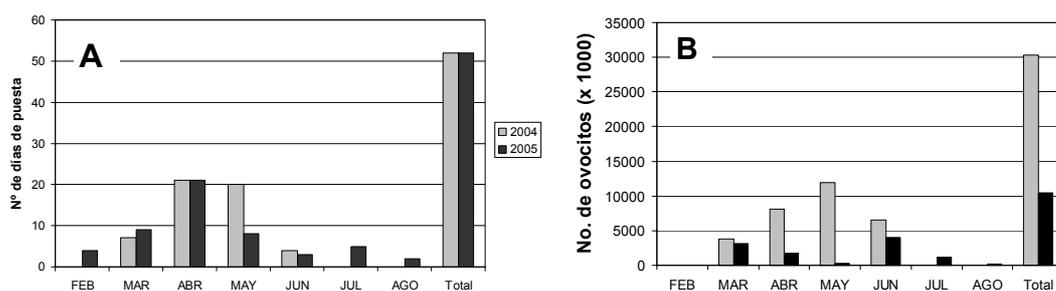


Fig. 22.- Número de días de puesta natural (A) y total de ovocitos (B) de *S. marginatus* obtenidas en el criadero de “Agua del Pino”.

El periodo de puesta se extendió en 2004 desde marzo hasta junio, mientras que en 2005 aparecen algunas puestas en febrero y se extienden hasta el mes de agosto. Sin embargo, habiendo obtenido un número total de días de puestas muy similar en ambos años, en 2004 se recogieron 3 veces más ovocitos.

De entre los métodos de puesta inducida ensayados, el que ha obtenido mejores resultados ha sido el de choque térmico extremo (0–26 °C), pero, ni siguiendo este método ni en las puestas naturales, ha sido posible observar la emisión de gametos, por lo que no se dispone de resultados de fecundidad por reproductor. Las puestas obtenidas a partir de recolección natural han venido acompañadas de impurezas propias de la presencia de sustrato, así como de una gran cantidad de zooplancton acompañante, entre el que se encontró en algunos tanques una alta presencia de cercarias de trematodos.

La presencia de estos parásitos, que produce castración de los reproductores obliga a extremar las condiciones de higiene y el control de las mortalidades, retirando diariamente con longuerones muertos, para evitar infecciones sobre otros individuos y sus efectos sobre los rendimientos en las puestas. Las puestas inducidas, aunque resulta ser un método que requiere más dedicación y se obtiene menor rendimiento de puesta, da lugar a ovocitos más limpios que deben suponer mejores supervivencias en el desarrollo embrionario.

#### CULTIVO LARVARIO

El cultivo embrionario da lugar a la formación de larvas D en 24-48 horas, dependiendo del estado de desarrollo que hayan presentado en el momento de la recogida de la puesta. Dado el rápido desarrollo embrionario en esta especie, parece conveniente durante esta etapa añadir una pequeña cantidad de fitoplancton para la alimentación de las larvas velíger que se hayan formado completamente antes del cambio del sistema de cultivo.

El cultivo larvario en esta especie es muy corto, con un promedio de entre 6 y 8 días desde la puesta, en relación a la temperatura y las condiciones de cultivo. A partir de este momento se produce la metamorfosis y las larvas pedivelíger busca ávidamente enterrarse en el sustrato, por lo que han sido trasladadas a los tanques de cultivo de postlarvas.

Los resultados de crecimiento han mostrado un incremento de entre 200 y 250 micras en 4 días de cultivo larvario (figura 23).

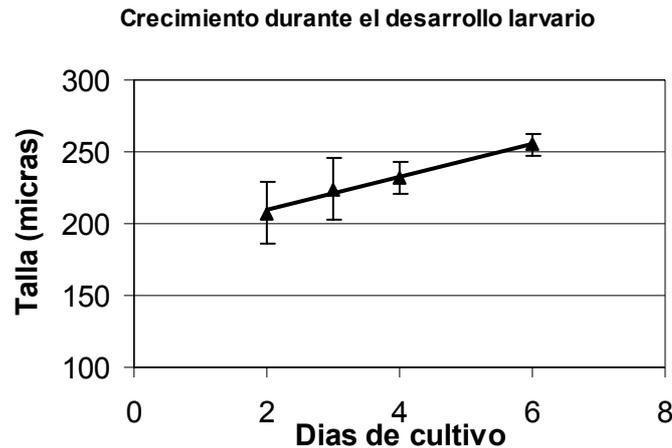


Fig. 23.- Crecimiento de la longitud antero-posterior de larvas de *S. marginatus* en cultivo. Los días de cultivo se expresan desde el momento de la puesta.

La mortalidad durante estas dos etapas de desarrollo, hasta completar la metamorfosis han sido altas y se representan en la figura 24. La mortalidad del desarrollo larvario ha sido superior al embrionario y entre las dos han supuesto más del 80 % de los valores iniciales de puesta.

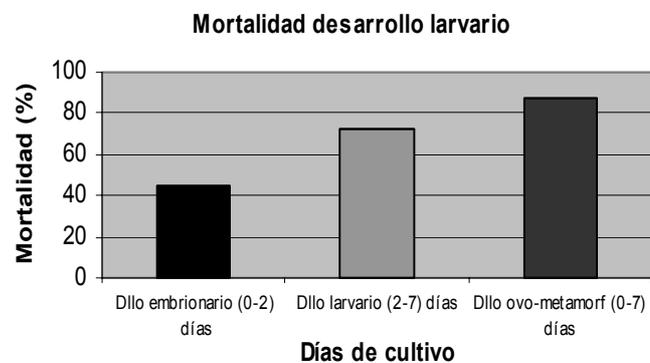


Fig. 24.- Mortalidades obtenidas durante las fases de desarrollo embrionario y desarrollo larvario en *S. marginatus*.

### POSTLARVAS

La talla media para alcanzar la metamorfosis ha sido de promedio 250 micras. Esta talla es semejante a la que ocurre en diferentes especies de Veneridos (almeja fina, japonesa, babosa), pero, dada la talla inicial de las larvas velíger, el tiempo para alcanzar el estado de peliveliger es de 7-8 días, 2 a 3 veces más rápido que estas especies.

El sistema de cultivo utilizado ha sido idóneo para el desarrollo de las postlarvas, pero resultó limitante en cuanto a densidad de cultivo, siendo necesario realizar un desdoble a medida que crecían los longuerones, pues se empezó a observar una ralentización del crecimiento y un aumento de la mortalidad.

Debido al uso de arena para el cultivo, la pequeña talla de los ejemplares en sus etapas iniciales, y a su fragilidad durante todo el proceso postlarvario, resulta muy difícil obtener datos de mortalidad y crecimiento. En general, el manejo durante esta etapa debe suponer un equilibrio entre mantener las condiciones adecuadas del cultivo y evitar mortalidades debidas a la limpieza de los tanques. Se aconseja la renovación de agua cada 2 días, la adición de microalgas diariamente y la limpieza del sedimento, mediante agitación suave con agua, dos veces en semana para la remoción del fitoplancton acumulado.

Normalmente este sistema se mantuvo hasta una talla de 15 mm., pero se realizaron diferentes experiencias para establecer la talla mínima para someter a las semillas de longuerón a regímenes de agua y alimento en circuito abierto, menos costoso y que permite mayores densidades de cultivo.

En la experiencia en la que se han probado dos tallas de semilla, distintas densidades de siembra y dos sistemas de cultivo, la presencia de un doble fondo en los tanques, separados por una membrana de “geotextil”, al igual que la densidad de cultivo, sí supuso diferencias significativas en el crecimiento de las semillas de talla pequeña (Kruskal–Wallis,  $p < 0,05$ ) a partir del día 24 de cultivo. Los mayores crecimientos en esta clase de talla se produjeron en los tanques con doble fondo y densidad más baja. Como puede apreciarse en la figura 25, los ejemplares que iniciaron este cultivo con tallas mayores, tuvieron un descenso en la tasa de crecimiento, pero no se observaron diferencias significativas entre las 3 densidades, ni debidas al tipo de fondo.

Comparacion de densidades y tallas iniciales

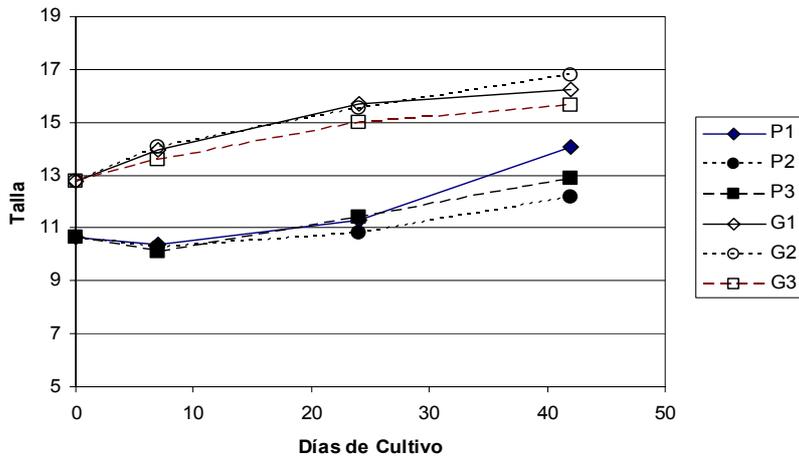


Fig. 25.- Crecimiento de semillas con dos tallas iniciales (G – grandes, P – Pequeñas) y 3 densidades (1, 2 y 3), en cultivo de semillas es circuito abierto.

En los ensayos de diferentes sistemas de cultivo de semillas, en la figura 26 se muestran los datos de crecimiento en talla y peso de las semillas de longuerón en los distintos tratamientos.

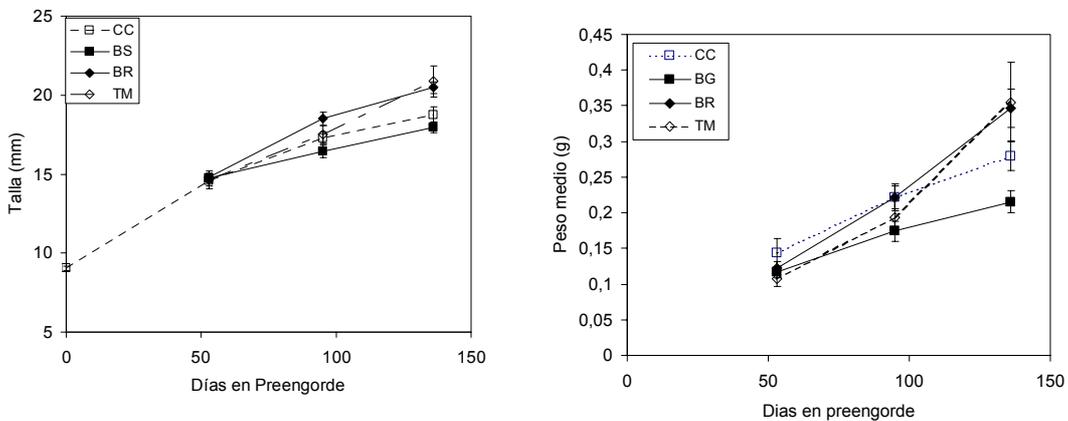


Fig. 26.- Crecimiento de semillas de longuerón en distintos sistemas de cultivo. CC – Circuito cerrado, BG – Bandejas flotantes circuito abierto, BR – Bandejas circuito Race-way, TM - Tanque de gran volumen, circuito abierto.

Como puede observarse, las bandejas de 40 litros con fondo de arena (BR) y el tanque de gran volumen (1.000 litros) también con fondo de arena (TM), resultaron ser los métodos con mayor crecimiento para las semillas de longuerón. En este último tipo de tanque se ha alcanzado la mayor talla media hasta la fecha de 20,88 mm, frente a los 17,9 y 18,8 de los sistemas de menor crecimiento.



## **LÍNEA IV: CULTIVO EXTERIOR**

#### **Línea 4: CULTIVO DE SEMILLA EN EL EXTERIOR: VALORACIÓN DE REPOBLACIONES *VERSUS* CULTIVO EN CAUTIVIDAD**

##### **RESUMEN**

Experiencias llevadas a cabo en la C.A. de Andalucía, donde se ha utilizado un sistema de preengorde de longuerón (*S. marginatus*) en tanque exterior de gran superficie (37,5 m<sup>2</sup>), y se han ensayado diferentes tallas iniciales (8, 11-13, 24 mm) y densidades (800 y 1600), arrojan como resultado que se producen mortalidades muy importantes en este sistema para tallas pequeñas o superiores a 15 mm, mientras que los longuerones cultivados con talla 11-13 mm mostraron crecimiento (G<sub>30</sub> máxima de 0,1) y supervivencia del 50% independientemente de las dos densidades ensayadas.

Las CC.AA. de Galicia y Asturias han realizado experiencias sobre el engorde de semillas de *S. marginatus* a partir de tallas de 15-20 mm, mostrando resultados similares: Las siembras de semillas para engorde, realizadas en verano en jaulas enterradas de 20 x 20 cm, a densidades de 400 ind./m<sup>2</sup>, han alcanzado los 60 mm al cabo de los 12 meses, con una supervivencia en torno al 60-70%, y 67 mm a los 19 meses, por lo que se estima que se alcanzará la talla comercial en 2 años.. En Andalucía, estas experiencias se realizaron durante 6 meses a partir de primavera, alcanzándose una talla de 45 mm, pero con una supervivencia del 25 %. En los cultivos realizados sobre el fondo únicamente con red de cobertura, se constata la completa desaparición de los ejemplares al cabo de unos meses.

Se considera necesario extender estos resultados a zonas intermareales más amplias, y el diseño y utilización de recintos de mayor tamaño que hagan rentable este cultivo. Las densidades estudiadas no han resultado limitantes para el crecimiento en engorde y se esboza una técnica de cultivo en zonas submareales, útiles para repoblaciones u ocupación de áreas en las que no se puedan cultivar otras especies.

## **Subproyecto I: GALICIA.**

### **Metodología**

Cuando la semilla, mantenida en el semillero, alcanza una talla superior a los 20 mm se traslada al medio natural. Se siembra en jaulas fabricadas con varilla de acero inoxidable de 10 mm de diámetro, con un área de 50 x 50 cm y altura de 50 cm. Las jaulas enterradas en el sustrato se cubren en su parte superior por una malla plástica de 2 mm de luz, para evitar el desplazamiento de los individuos. Estos artefactos se entierran en el sustrato arenoso de forma que la tapa queda a nivel del terreno. Periódicamente se muestrean anotando longitud, anchura, peso y supervivencia.

Además de las experiencias realizadas en Galicia con semilla producida en la línea anterior en nuestro centro (Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo), se realizaron envíos a las otras comunidades para que realizaran las actividades que tenían previstas dentro de esta línea. A continuación se desglosan las cantidades de semilla enviadas:

- Envío a la C. A. de Asturias de 350 unidades de *S. marginatus* el 31/8/2004 para su siembra en parque contiguo a la zona de las jaulas, además de la partida de 600 unidades para realizar una experiencia conjunta de siembra en jaulas el 31/8/2004.

- A la C. A. de Cantabria se le ofreció semilla de los géneros *Ensis* y *Solen* en diferentes anualidades no demandándola en ningún momento.

- A la C. A. de Andalucía se realizó el 26/11/2003 un envío de 840 unidades de *Solen marginatus* para su siembra en el intermareal de Huelva.

### **Resultados y discusión**

*Solen marginatus*.

A finales del mes de julio de 2003 se siembra una partida de semilla de *Solen marginatus*, producida en el criadero del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo, con una longitud media de  $14 \pm 1,6$  mm (siembra 1, ver figura 27.A), siguiendo su crecimiento hasta mediados de abril de 2004. Durante los meses de verano el crecimiento es mayor (3,5 mm/mes en longitud), descendiendo la tasa de crecimiento durante el otoño a 1,5 mm/mes durante estos meses, para estancarse durante el invierno. Para las siembras 2 y 3, el crecimiento en longitud fue moderado durante el otoño y se

estancó prácticamente durante los meses de invierno. El crecimiento en anchura fue ligero a lo largo de la experiencia, como se puede ver en la figura 27.B.

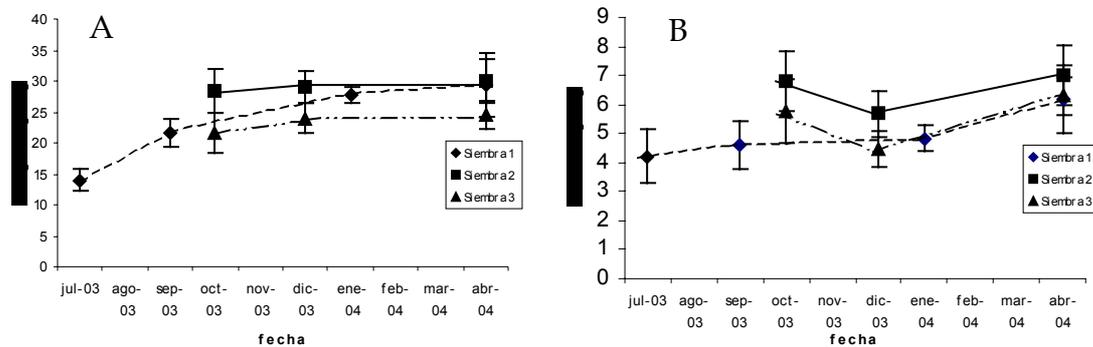
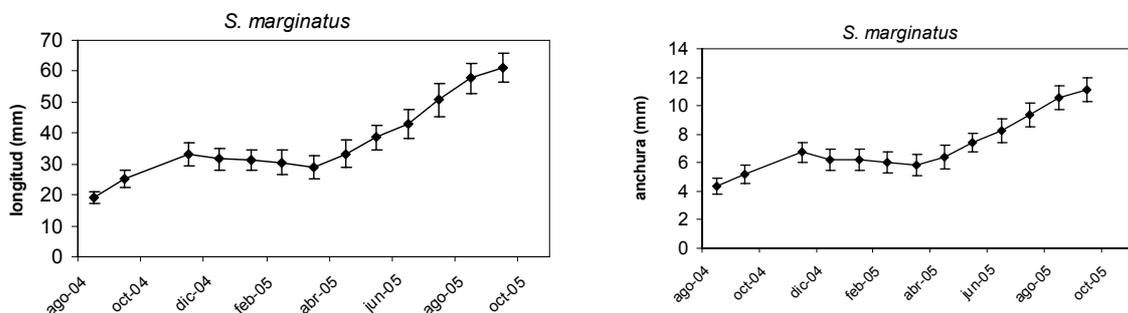


Fig. 27.- Crecimiento de la semilla de *S. marginatus* dispuesta en los recintos controlados. A: Incremento en longitud. B: Incremento en ancho.

En agosto de 2004 se realizó una siembra conjunta con el CEP-Castropol (Principado de Asturias) con semilla obtenida en el criadero del Centro de Cultivos marinos de Ribadeo-CIMA (Xunta de Galicia). Se dispusieron 600 unidades de *S. marginatus* en el intermareal de Castropol (Ría de Ribadeo) en jaulas a una densidad inicial de 400 individuos /m<sup>2</sup> quedando descubiertas las jaulas con mareas bajas inferiores a 0,55 m de B.M.V.E. Esto posibilita el muestreo mensual en las mareas vivas en las que se estima supervivencia y crecimiento en longitud, anchura y peso. Además en época de madurez se recogieron 10 individuos por clase de talla, diferenciando grupos cada 5 mm, con la finalidad de estimar talla de primera maduración.

Inicialmente los individuos median 19,1±1,92 mm y pesaban 0,24±0,08 gr (correspondiéndose con 4 meses de vida). Los individuos sembrados alcanzaron al año de vida una longitud de 38,53±3,89 mm y un peso de 1,56±0,46 gr, correspondiéndose con haber cumplido 8 meses de siembra. Transcurridos 1 año desde el inicio de la experiencia de siembra los ejemplares median 57,78±4,91 mm de longitud con un peso de 5,31±1,24 gr. Hasta el momento (1 año y 7 meses de vida) la supervivencia acumulada es de 70 % y el porcentaje medio de individuos dañados en la captura de 7,1 %. Se prevé continuar la experiencia hasta alcanzar la talla comercial para la especie (80 mm), previsiblemente a los 2 años de vida. (figura 28).



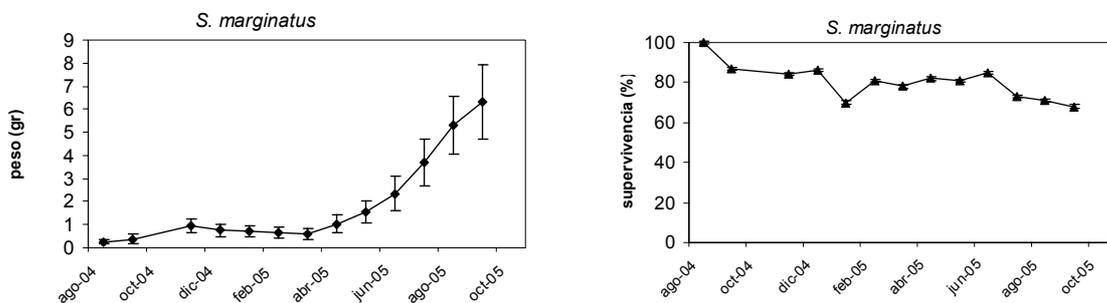


Fig. 28.- Evolución de la longitud, ancho, peso y supervivencia a lo largo de la experiencia de siembra con *Solen marginatus*.

Además se han realizado siembras para repoblación de los bancos naturales en diferentes puntos de la costa gallega.

*Ensis arcuatus*.

Se realizó una siembra en el intermareal de Corón (Ría de Arosa) de 200 unidades con una talla de  $18,81 \pm 2,30$  mm de longitud. Este lote se siguió hasta el 24 de octubre de 2003 alcanzando una talla de  $32,51 \pm 4,27$  mm de longitud. No se pudo controlar supervivencia y las tasas de recaptura fueron bajas debido a que la malla permitió la movilidad de ejemplares.

En el mes de octubre de 2004 se sembraron en el banco sumergido de A Lanzada en O Grove (Pontevedra) un total de 150.000 unidades de semilla de navaja de entre 2 y 15 mm. Las pruebas de asentamiento y recaptura todavía no han sido determinadas.

*E. siliqua*

El 14 de julio de 2003 se realizó una siembra en el intermareal de la Ría de Ribadeo de 200 unidades, distribuidas en 2 jaulas, con una talla de  $17,00 \pm 2,33$  mm. Esta semilla se siguió periódicamente hasta el 12 de diciembre de 2003 en que alcanzó una longitud de  $30,08 \pm 3,19$  mm. No se pudo controlar supervivencia y las tasas de recaptura fueron bajas debido a que la malla permitió la movilidad de ejemplares.

El 31 de julio de 2003 se realizó una siembra en recintos controlados en el infralitoral de Fisterra de 720 unidades con una talla de  $19,65 \pm 3,59$  mm. Debido a la dificultad de muestreo y a la pérdida de las jaulas que fueron levantadas por un arrastrero de la zona no se tienen datos del seguimiento de este lote.

En el mes de octubre de 2004 se sembraron en el banco sumergido de A Lanzada en O Grove (Pontevedra) un total de 150.000 unidades de semilla de longueirón entre 2 y 15 mm. Las pruebas de asentamiento y recaptura todavía no han sido determinadas.

## **Subproyecto II: ASTURIAS**

### **Metodología**

Se utilizaron tres lotes de semilla procedentes del Centro de Cultivos de Ribadeo (CIMA), de la Xunta de Galicia y se siembran en jaulas enterradas, en zona intermareal de la ría del Eo.

La primera siembra se realiza el 29 de agosto del 2003 con un total de 900 ejemplares de 120 días de edad y una talla media de 20,65mm y 0,21g de peso.

Posteriormente, el 29 de septiembre, se realiza una segunda siembra de 200 ejemplares, con una talla de 16,98 mm y 0,15g de peso.

Para la siembra se dispone de tanques cilíndricos de 60cm de diámetro y 34cm de profundidad, protegidos por la parte superior e inferior con malla de 4mm de luz. La densidad de siembra fue de 400 ejemplares/m<sup>2</sup>.

El 31 de agosto del 2004 se realiza la tercera siembra, con 600 ejemplares de 19 mm de longitud, 4 mm de ancho y 0,24g de peso y se reparten a razón de 100 semillas por jaula, en jaulas de 50 cm de lado, es decir unos 400 ej./m<sup>2</sup>.

Las jaulas utilizadas son de estructura metálica, cuadradas y protegidas con una malla de 2 mm, que posteriormente fue sustituida por otra malla de 4 mm, en el momento en que el tamaño de la semilla lo permitió.

Los muestreos se realizaron cada mes sobre una jaula diferente, procediendo al recuento, medición de longitud, anchura y peso del total de los ejemplares. Como medida de mantenimiento, se realizó la retirada de depredadores y limpieza de la jaula en cada muestreo. Los ejemplares muestreados eran devueltos a su jaula una vez realizadas los controles correspondientes.

### **Resultados y discusión.**

#### *Siembra año 2003.*

En la tabla III y figura 29 podemos ver los resultados del crecimiento de los dos lotes de semilla sembrados en el mes de agosto y de septiembre del año 2003.

Tabla III.- Datos de crecimiento en *S. marginatus* en jaulas enterradas en la ría del Eo (2003).

CONTROL	LONGITUD (mm)	ANCHURA (mm)	PESO (g)
Agosto	20,65	4,11	0,20
Septiembre	16,98	3,58	0,15
Septiembre	24,06	5,4	0,44
Octubre	29,62	6,28	0,71
Noviembre	29,62	6,28	0,71
Diciembre	34,69	6,67	0,99

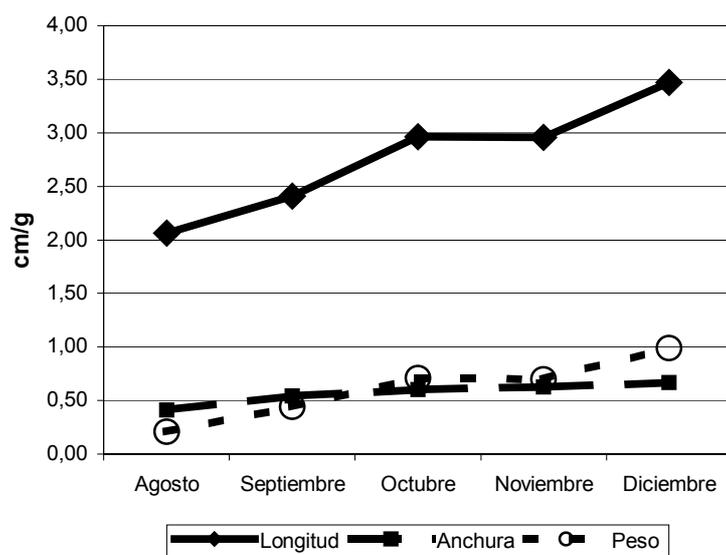


Fig. 29.- Evolución del crecimiento de *S. marginatus* en la ría del Eo en el 2003

A partir del mes de diciembre del 2003 no se pudo seguir con los muestreos debido a la alta mortalidad de la semilla por depredación y condiciones climatológicas adversas.

*Siembra año 2004.*

En la tabla IV y figura 30 podemos ver los resultados del crecimiento de la semilla introducida el 31 de agosto del 2004, fecha de siembra, hasta el mes de septiembre del año 2005.

No se disponen de datos pertenecientes al mes de octubre debido a las adversas condiciones meteorológicas que imposibilitaron el acceso a la zona de siembra.

Tabla IV.-Datos de crecimiento en *S. marginatus* en jaulas enterradas en la ría del Eo (2004-2005).

<b>Meses</b>	<b>Long (mm)</b>	<b>Ancho (mm)</b>	<b>Peso (g)</b>
<b>ago</b>	19,10	4,36	0,24
<b>sep</b>	25,25	5,19	0,39
<b>oct</b>	-	-	-
<b>nov</b>	33,04	6,76	0,96
<b>dic</b>	31,55	6,21	0,75
<b>ene</b>	31,24	6,20	0,73
<b>feb</b>	30,53	6,06	0,63
<b>mar</b>	28,88	5,86	0,62
<b>abr</b>	33,24	6,42	1,03
<b>may</b>	38,53	7,42	1,56
<b>jun</b>	42,95	8,26	2,35
<b>jul</b>	50,65	9,37	3,71
<b>ago</b>	57,78	10,58	5,31
<b>sep</b>	60,91	11,15	6,32

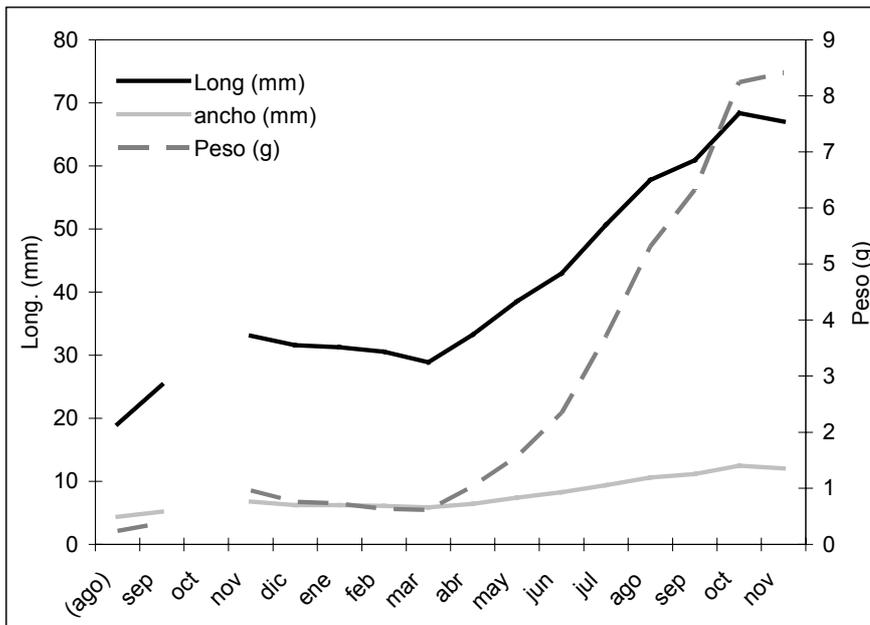


Fig. 30.- Evolución del crecimiento en *S. marginatus* en la ría del Eo 2004-2005.

La supervivencia acumulada de la semilla, al cabo de 13 meses de engorde en las jaulas enterradas, fue del 61% al 82%, incluyendo en la mortalidad aquellos ejemplares que se rompían como consecuencia de la manipulación, durante el muestreo.

### **Subproyecto III: CANTABRIA**

La prueba experimental de siembra controlada de semilla de solénidos en el medio natural, ha estado supeditada a su obtención en criadero y preengorde en semillero. Durante este año se han probado las estructuras metálicas realizadas, según el diseño de la Comunidad Autónoma de Galicia, en la ría de San Vicente de la Barquera donde posteriormente se diseñó el parque experimental protegido. Se descartaron el resto de los primitivos emplazamientos elegidos al comprobarse en este año que no se ajustaban en su totalidad con los criterios de selección del medio establecidos en un principio.

La siembra con semilla del género *Ensis* y *Solen* procedente de los criaderos de Galicia, estaba prevista realizarse entre finales de Junio y principios de julio en ría de San Vicente, no realizándose al no poder coordinarse el suministro de semilla y los recursos humanos existentes en ese momento, lo que hizo inviable su desarrollo. No se descarta la ejecución de estos trabajos en próximas anualidades dado que disponemos de la infraestructura necesaria para su realización tanto en material como en zona.

## **Subproyecto IV. ANDALUCIA**

### **Metodología**

En el desarrollo de este proyecto se ha llevado a cabo el cultivo de semillas de longuerones procedentes tanto del medio natural como de criadero. Para poder gestionar la semilla del medio natural se ha efectuado el seguimiento de la población del río Piedras durante un año (estudio biométrico mensual), lo que nos ha permitido establecer la captura de los individuos para su cultivo controlado. Los ejemplares de criadero se obtuvieron, un lote, en el año 2003, del criadero del CIMA de Ribadeo (Lugo) y, el resto, de los longuerones criados en la hatchery del CIFPA “Agua del Pino” (Huelva) durante los años 2004 y 2005.

Técnica de recolección:

\* Medio natural:

La pesca se ha realizado en el mes de diciembre de 2004 desde una embarcación provista de draga hidráulica, ya que debido al aumento progresivo de la profundidad de enterramiento de los individuos del medio natural en los muestreos del último trimestre de 2004, este método facilitaría su captura. La draga hidráulica ejerce menos daño sobre los moluscos que otros rastros; además, los deterioros pueden reducirse disminuyendo la velocidad de rastreo.

Una vez realizada la recolección se separaron la mayoría de los individuos menores de 65 mm para su cultivo en el medio natural en la zona submareal del río Piedras, y el resto se sembraron, por clases de talla, en un tanque “race-way”.

➤ Técnica de siembra y muestreo:

\* Medio natural en submareal:

Los ejemplares se siembran en terreno areno-fangoso, en una zona que emerge solamente con coeficientes de marea superiores a 90-95. Previamente a la siembra se ha seleccionado una zona idónea en función del sedimento, y se limpia con un rastro para retirar los competidores y depredadores. El cultivo se establece en una calle de 4 m x 2 m, la cual se define marcando sus extremos con unas estructuras de gavilla de hierro en forma de “H”, semejante a una “portería de rugby”, que se fija en el fondo hasta la altura del segmento horizontal. Para evitar la depredación se cubre con

red de protección (luz de malla de 2 mm), a la cual se le confeccionan en sus extremos unas gazas que se engancharán en cada uno de los extremos de la H, para facilitar el descenso de la red hasta el fondo, así como plomada a lo largo de su perímetro para favorecer su acoplamiento al suelo. Posteriormente, los buzos realizan la siembra (225 uds/m<sup>2</sup>) durante una bajamar de marea muerta, fijaron la red al fondo con clavijas repartidas a lo largo de su perímetro.

Los muestreos se han realizado mensualmente mediante buceo; para ello se levanta un extremo de la red de cobertura y con sal se muestrean una serie de calicatas de 20 cm x 20 cm, elegidas al azar, extrayendo un mínimo de 30 individuos. Con los datos obtenidos se determinan la densidad, mortalidad y crecimiento.

\* Medio natural en intermareal:

Los individuos se siembran en el terreno, en una zona que emerge con coeficientes de marea superiores a 80, en jaulas realizadas en malla de red plástica de 4 mm de luz (52 g/m<sup>2</sup>) de 0,25 m<sup>2</sup> y 0,2 m de alto y enterradas en el sustrato, y a las cuales se les cubre en su parte superior por una malla plástica de la misma luz que queda enrasada a nivel con el terreno. El muestreo se realiza con sal mensualmente (30 ejemplares), siendo devueltos los individuos al módulo de cultivo.

\* Tanque tipo “race-way”:

Son tanques exteriores construidos en mampostería, de 2,5 m x 15 m y 0,60 m de alto, con circuito abierto de agua cruda (decantada y filtrada por arena), con una altura media de la columna de agua de 35 cm. Cuatro paletas accionadas mecánicamente aseguran la oxigenación y el movimiento de la masa hídrica, dispersando el alimento a través de una tubería situada a todo lo largo del tanque con llaves reguladoras cada 2,5 m. El fondo está preparado con un conjunto de tuberías perforadas, dispuestas como una espina de pescado, y conectadas con un sistema “air-lift”; una capa inferior de grava de 5 cm; una lámina de “geotextil” (tejido permeable que separa la capa inferior de la superior); y una capa superior de arena de espesor entre 10 cm y 25 cm, con un tamaño de grano mayor de 200 µm, y que representa el horizonte de cultivo propiamente dicho.

La siembra se realiza en áreas de 0,5 m<sup>2</sup> (0,5 m de ancho y 1 m de largo), tanto de ejemplares del medio natural, para el estudio de la capacidad de enterramiento y supervivencia de individuos capturados, como de individuos que proceden del criadero, para analizar la mejora que puede suponer un engorde previo en un tanque (con

condiciones más controladas) antes del traslado de las semillas al medio natural. Se han efectuado varias experiencias de cultivo, a distintas densidades y con diferentes tallas iniciales en el tanque exterior partiendo de diversos lotes del criadero.

Semanalmente observamos los individuos sin enterrar y estimamos la mortalidad; realizándose el estudio biométrico con una periodicidad mensual.

## Resultados y discusión

- Seguimiento de la población del río Piedras:

A partir de los datos obtenidos en los muestreos mensuales de la población del río Piedras (Huelva) durante el año 2004, se han calculado las relaciones biométricas entre longitud, altura, grosor y peso para esta especie en este banco natural (tabla V).

Tabla V.- Relaciones métricas entre los distintos ejes y el peso de la población de *S. marginatus* del río Piedras. (L: eje anteroposterior; H: eje dorso-ventral; G: grosor; P: peso fresco; R<sup>2</sup>: coeficiente de correlación; n: número de observaciones)

Relación	Recta de regresión	R <sup>2</sup>	n
L – H	$Y = 2,28 + 0,16 X$	0,9315	1062
L – G	$Y = 0,95 + 0,14 X$	0,8677	1062
H – G	$Y = -0,81 + 0,91 X$	0,8811	1062
P – L	$Y = 4,54 \cdot 10^{-5} X^{2,85}$	0,9618	1042

- Semilla obtenida del medio natural:

El análisis realizado en el tanque “race-way” sobre la capacidad de enterramiento y la supervivencia de los individuos capturados en el medio natural puso de manifiesto que los longuerones, dentro del rango de tallas 20-130 mm y con el método de captura utilizado (draga hidráulica), tienen una elevada supervivencia en su resiembra (al final de la primera semana hay una mortalidad total del 5,09 %) de lo que se deduce, que la adaptación de los individuos al medio después de su captura es buena, siendo aplicable tanto para los cultivos controlados como en las repoblaciones.

En la calle de cultivo de la zona submareal se sembraron, en diciembre de 2004, 1800 individuos (225 ind/m<sup>2</sup>) con una talla media de  $48,63 \pm 8,50$  mm y un peso vivo individual medio de 3,01 gr. A las 24 horas se realizó una revisión de la parcela por los buzos, observándose muy pocos longuerones muertos, un 6-7 % de ejemplares sin enterrar, y que la red estaba en buenas condiciones y bien sujeta al fondo. El

seguimiento del cultivo se ha llevado a cabo durante 8 meses, mostrándose los resultados en la figura 31. Debido a que las redes fueron levantadas, por mariscadores o con algún rastro, no se han podido obtener los datos finales.

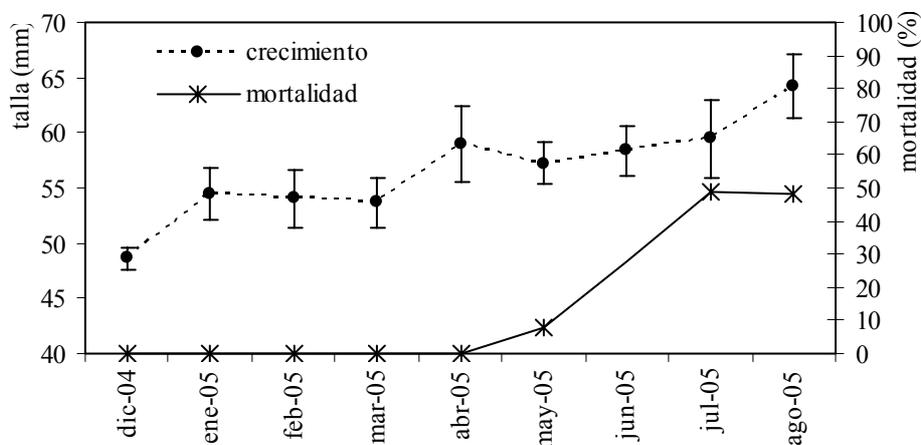


Fig. 31.- Evolución de la talla y la mortalidad a lo largo de la experiencia de siembra en la zona submareal.

En mayo de 2005 comienza a manifestarse mortalidad que a principios de verano (julio) alcanza valores muy elevados, ésta se observa tanto en los individuos cultivados como en la población del medio natural, sin haber ninguna razón clara que la justifique. La mortalidad afectó en el cultivo a los individuos mayores, poniéndose de manifiesto en los sucesivos muestreos, por la disminución de la talla media, y en la tasa final de crecimiento ( $G_{30}=0,035$ ).

Aunque solamente se ha realizado el cultivo de una calle con individuos del medio natural, y sería conveniente repetir esta experiencia, tanto con estos ejemplares como de criadero, a partir de los resultados preliminares obtenidos podemos concluir que la tecnología de siembra en la zona submareal es factible, y que la incidencia de la red de cobertura no es negativa y nos previene de la depredación y los desplazamientos; por lo tanto, la metodología utilizada en este ensayo es viable para realizar cultivos semiextensivos, resiembras o repoblaciones y/o para establecer unidades de reproductores en las zonas submareales, lo que no obstaculizaría el cultivo de otros moluscos que se pueden realizar en la intermareal, con niveles correspondientes a bajamares de mareas vivas, y que resulten económicamente más rentables.

- Semilla obtenida del criadero:

La siembra realizada con los individuos recibidos del CIMA de Ribadeo (Lugo) en el medio natural, en el año 2003, tuvo una alta mortalidad. La inicial, a la recepción de los ejemplares, fue del 6 %, además de un 20 % de individuos rotos, alcanzando a los 2 meses el 35 % y a los 6 meses de cultivo el 100 %.

Se han realizado siembras paralelas en el medio natural (en jaulas de malla) y en el criadero (parcelas del tanque “race-way”), de semillas obtenidas en el CIFPA “Agua del Pino”, durante marzo y abril de 2005, a una densidad de 800 ind/m<sup>2</sup> (tabla II).

Tabla VI Cultivos en tanque y en la zona intermareal de *S. marginatus*. (T. Inicial: talla inicial en mm; T. Final: talla final en mm; G<sub>30</sub>: tasa de crecimiento mensual; Spv: porcentaje de supervivencia).

CULTIVO	SIEMBRA	T. INICIAL	RECOLECCIÓN	T. FINAL	G <sub>30</sub>	SPV
Intermareal	Marzo-05	22,12	Junio-Sept.	33,86 - 45,2	0,15 - 0,12	25 - 2
Intermareal	Abril-05	23,94	Septiembre	45,87	0,114	5,5
Tanque	Marzo-05	22,12	Junio	23,96	0,028	3
Tanque	Abril-05	23,94	Agosto	21,89	0	3

El crecimiento es considerablemente mayor en los individuos sembrados en el medio natural, siendo la tasa de crecimiento (G<sub>30</sub>) en el tanque de cultivo prácticamente nula (tabla VI). La supervivencia de estos cultivos es muy baja en ambos supuestos, debido tanto a que se ha partido de ejemplares de baja calidad, ya que en 8 meses de vida sólo habían alcanzado la talla de 22-23 mm (individuos obtenidos en las puestas del año 2004), así como a una alta mortalidad ocurrida en la población del medio natural, esa primavera, como se ha expuesto anteriormente.

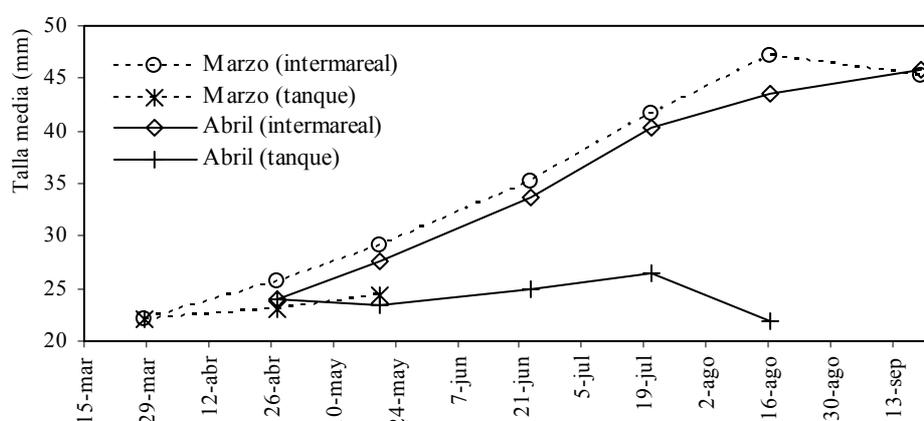


Fig. 32.- Evolución de la talla a lo largo de las experiencias de siembras paralelas en la zona intermareal y en el tanque durante el año 2005.

El crecimiento es considerablemente mayor en los individuos sembrados en el medio natural (figura 32), siendo la tasa de crecimiento ( $G_{30}$ ) en el tanque de cultivo prácticamente nula (tabla VI). La supervivencia de estos cultivos es muy baja en ambos supuestos, debido tanto a que se ha partido de ejemplares de baja calidad, ya que en 8 meses de vida sólo habían alcanzado la talla de 22-23 mm (individuos obtenidos en las puestas del año 2004), así como a una alta mortalidad ocurrida en la población del medio natural, esa primavera, como se ha expuesto anteriormente.

Tabla VII.- Cultivos en el tanque exterior (“race-way”) durante el año 2005 de *S. marginatus*. (T. Inicial: talla inicial en mm; T. Final: talla final en mm; Dens. Inicial: densidad inicial en ind/m<sup>2</sup>;  $G_{30}$ : tasa de crecimiento mensual; Spv: porcentaje de supervivencia).

T. INICIAL	SIEMBRA	DENS. INICIAL	T. FINAL	RECOLECCIÓN	$G_{30}$	SPV
24,79	Mayo	800	24,50	Junio	0	8,7
<b>12,90</b>	<b>Julio</b>	<b>1400</b>	<b>17,40</b>	<b>Octubre</b>	<b>0,084</b>	<b>41,4</b>
8,5	Julio	2400	8,7	Octubre	0,007	4
8,5	Julio	1600	8,49	Septiembre	0	22
8,5	Julio	800	7,49	Agosto	0	15
<b>11,81</b>	<b>Agosto</b>	<b>800</b>	<b>14,08</b>	<b>Noviembre</b>	<b>0,083</b>	<b>39</b>
<b>12,78</b>	<b>Septiembre</b>	<b>1600</b>	<b>14,73</b>	<b>Noviembre</b>	<b>0,100</b>	<b>51</b>
<b>12,78</b>	<b>Septiembre</b>	<b>800</b>	<b>14,60</b>	<b>Noviembre</b>	<b>0,093</b>	<b>50,5</b>
10,62	Septiembre	1600	10,73	Noviembre	0,007	34,5
10,62	Septiembre	800	10,87	Noviembre	0,017	57,3

Los individuos de 10 mm o menores, así como los mayores de 20 mm han tenido un crecimiento nulo y una mortalidad muy alta; por el contrario, los individuos sembrados entre 11 y 13 mm han logrado tasas de crecimiento y supervivencia buenas.

Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos en el cultivo de la semilla obtenida de criadero podemos concluir que:

- Las siembras en el exterior no deben iniciarse con semillas de longuerón de talla inferior a 10 mm.

- Con semilla entre 10 y 20 mm parece viable realizar un engorde previo en un tanque, con condiciones controladas, antes del traslado de las semillas obtenidas en criadero al medio natural; pero sería necesario realizar más experiencias a este respecto, sobre todo efectuando un mayor control sobre la alimentación suministrada y estudiando su posterior traslado al medio natural.

- El cultivo con individuos mayores de 20 mm debe realizarse directamente en el medio natural sin realizar un engorde previo en un tanque exterior.



## LÍNEA V: DEPURACIÓN

## **Línea 5: DEPURACIÓN Y MERCADOTECNIA**

### RESUMEN

Los solénidos poseen un importante valor comercial en España. En los últimos años se han incrementado las importaciones debido a su apreciado valor culinario y a una mayor explotación de este recurso en países que no tenían tradición (Irlanda, Escocia, Holanda). Existe legislación que fija las normas sanitarias aplicables a la producción y puesta en el mercado de los moluscos bivalvos vivos (Directiva 91/492 CEE, de 15 de julio de 1991, trasposición RD 345 /1993. de 5 de marzo de 1993). El sistema habitual empleado para la depuración de moluscos bivalvos en instalaciones comerciales ha presentado numerosos problemas cuando se pretende trabajar con especies del grupo de los solénidos. La débil musculatura que poseen, provoca la fácil apertura de las valvas en cuanto llevan un tiempo desenterrados, acelerándose su degradación. En esta línea se pretende determinar unas condiciones de depuración, para la navaja (*Ensis arcuatus*), el longueirón (*Ensis siliqua*) y el longueirón vello (*Solen marginatus*), fácilmente aplicables a la rutina empleada en las depuradoras comerciales y que garantice una calidad óptima de los ejemplares al final del proceso.

Se han realizado distintas ensayos para ver las mejores condiciones de depuración.. Se usaron instalaciones de depuración en vertical y horizontal. Se probaron distintos métodos de estabulación.

Hemos comprobado que manteniendo los ejemplares atados (previa selección de los no dañados), en grupos de 15-20 ejemplares, colocados en horizontal se consigue superar el proceso de depuración con supervivencias del 100% y con un estado óptimo para su comercialización. Las múltiples experiencias realizadas demostraron que no se puede establecer unos tiempos de depuración para cada especie, ya que, existe una gran variabilidad según las épocas, la carga inicial de los ejemplares, la carga de la torre de depuración etc. De todas formas, se cumple el objetivo principal del proyecto, definiendo un sistema de depuración y una condiciones de estabulación de los ejemplares, que permite la superación del proceso sin daños que perjudiquen su posterior llegada al consumidor.

## Informe por Subproyectos:

### Subproyecto I: GALICIA

#### Metodología

Las experiencias de depuración se realizaron en noviembre de 2004, febrero y abril del 2005 con ejemplares de *E. arcuatus* y *E. siliqua* del banco natural de Placeres, ubicado en el interior de la Ría de Pontevedra y clasificado como zona C mediante la Orden del 10 de julio de 2002 (DOG N° 143 de 26 de julio) en función de la calidad microbiológica de las aguas y ejemplares de *S. marginatus* del banco natural de Redondela (Ría de Pontevedra) declarado zona B. La técnica de extracción de los ejemplares empleada en los muestreos fue el buceo en apnea para las dos primeras especies y a mano en el caso de *S. marginatus*.

Los ejemplares eran seleccionados, eliminando los que presentaban daños (roturas, daño en el pie, apertura de valvas...), estabulados en haces de 15-20 ejemplares atados con gomas y transportados en nevera isoterma a la estación depuradora en las horas inmediatamente posteriores a la extracción. El sistema de depuración consiste en el apilamiento vertical de tanques donde se colocan las bandejas con los moluscos; sobre éstos cae el agua, tratada con cloro, desde la parte superior, con caudal suficiente para inundar toda la torre (figura 33).



Fig. 33.- Sistema de depuración vertical empleado en las experiencias.

Los parámetros físico-químicos del agua entrante, captada del medio natural, no fueron modificados, ajustándonos al procedimiento normal de las plantas depuradoras

comerciales. Los manojos de solénidos se embolsan en malla plástica y se colocan en posición horizontal dentro de bandejas de plástico (figura 34).



Fig. 34.- Sistema de estabulación de los ejemplares.

Las experiencias de depuración se realizaron en distintas épocas del desarrollo gonadal de estos moluscos, para evaluar la posible influencia en el proceso de depuración.

Durante el proceso de depuración se realizan controles a las 0, 4, 16 y 21 horas midiendo los niveles de coliformes fecales, *E. coli* y la presencia de *Salmonella* spp. El procedimiento de recuento de coliformes fecales se hizo siguiendo el método del Número Más Probable (NMP), inoculando en 3 series de 5 tubos de medio Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante y la prueba de la producción de indol en Agua de Triptona al 1% para *E. coli*. Para la determinación de la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. se hizo un pre-enriquecimiento en agua de peptona tamponada estéril, un posterior enriquecimiento en medios selectivos (Rappaport-Vasiliadis y Tetracionato), siembra en agar Rambach, agar entérico Hektoen, agar verde brillante-rojo fenol para identificación presuntiva y confirmación bioquímica con API-20E.

La legislación actual sitúa los niveles tolerables para el consumo de moluscos en menos de 300 coliformes fecales / 100 g de producto o menos de 230 *E. coli*/ 100 g, además de la ausencia de *Salmonella* spp.

## Resultados y discusión

Durante el desarrollo del proyecto se realizaron múltiples experiencias con las distintas especies, las primeras experiencias sirvieron para perfeccionar el sistema y probar las técnicas de análisis. En una segunda fase nos vimos obligados a realizar una contaminación previa de las muestras debido a la escasa carga inicial de las muestras que dificultaban la obtención de resultados concluyentes. Las dificultades añadidas que presentaba la contaminación previa, con el consiguiente debilitamiento de los ejemplares provocó un nuevo cambio de estrategia, basada en la búsqueda de bancos con más probabilidad de contaminación para lograr unos resultados más próximos a la realidad.

Los resultados obtenidos muestran un claro descenso en el contenido de los microorganismos cuantificados a lo largo de las 21 horas de estudio en todos los casos (tablas VIII, IX y X). Las supervivencias fueron en todos los casos del 100%.

En la tabla VIII, observamos que *E. arcuatus*, presenta un patrón de depuración muy similar en las dos épocas de estudio. Atendiendo al contenido en coliformes fecales, en menos de 21 horas se consiguen los niveles admisibles, mientras que el contenido en *E. coli* ya está lo suficientemente bajo antes de 16 horas.

Tabla VIII.- Niveles de coliformes fecales y *E. coli* por 100 gramos de navaja (*Ensis arcuatus*) en los controles realizados en noviembre y febrero (junto con los datos de temperatura y salinidad)

horas	coliformes fecales (/100g)		<i>E. coli</i> (/100g)	
	noviembre (10°C-37‰)	febrero (14°C -36‰)	noviembre (10°C-37‰)	febrero (14°C -36‰)
0	9100	3500	750	1700
4	2400	500	200	500
16	1750	310	160	160
21	40	160	20	70

En la tabla IX (*E. siliqua*), se observa en la experiencia de noviembre un rápido descenso del contenido en *E. coli*, quedando aptas para el consumo en menos de 16 horas, mientras que los coliformes fecales no descienden por debajo del límite

establecido por la legislación vigente. La muestra de febrero estaba en condiciones aptas para el consumo, por lo que no hacía falta depuración.

Tabla IX.- Niveles de coliformes fecales y *E. coli* por 100 gramos de longueirón (*Ensis siliqua*) en los controles realizados en noviembre y febrero (junto con los datos de temperatura y salinidad).

horas	coliformes fecales (/100g)		<i>E. coli</i> (/100g)	
	noviembre	febrero	noviembre	febrero
	(10°C-37‰)	(14°C –36‰)	(10°C-37‰)	(14°C –36‰)
0	>18000	90	1300	90
4	16000	70	700	70
16	1100	20	100	20
21	1100	40	90	40

La especie *S. marginatus* partía de una carga inicial no muy elevada, por lo que en 4 horas ya estaba lista para su comercialización (tabla X). De todas formas, la experiencia mostró la alta capacidad de esta especie para soportar las condiciones del proceso, manteniéndose durante una semana un lote en la depuradora sin aparecer ningún caso de mortalidad.

Tabla X.- Niveles de coliformes fecales y *E. coli* por 100 gramos de longueirón vello (*Solen marginatus*) en la experiencia de abril (junto con los datos de temperatura y salinidad).

horas	coliformes fecales (/100g)		<i>E. coli</i> (/100g)	
	abril		Abril	
	(12.5°C-37‰)		(12.5°C-37‰)	
0	310	310	310	310
4	110	110	110	110
16	110	110	110	110
21	40	40	40	40

En cuanto a la *Salmonella spp.*, no se ha detectado su presencia en ninguna de las experiencias en ambas especies.

Las dificultades que presentan los solénidos durante la depuración y la búsqueda de sistemas que garanticen la superación del proceso en las mejores condiciones posibles ha sido abordada por Younger et al. (2000). Estos autores se basan en el empleo de pequeños tanques con sistema de circuito cerrado, provistos de un complejo sistema de sensores que controlan y regulan diversos parámetros del agua de mar. En nuestro caso, hemos preferido basarnos en los medios disponibles en las depuradoras comerciales para definir unas condiciones de fácil transferencia a estas instalaciones para su empleo rutinario.

En la actualidad, existen dos tipos de plantas depuradoras en Galicia. La mayoría emplea el sistema clásico de largas piscinas de hormigón donde el agua circula a lo largo (sistema horizontal), mientras que otras han introducido un sistema más innovador, con tanques móviles que se apilan en vertical y donde el agua cae a chorro desde la parte superior. Hemos seleccionado una instalación comercial que emplea el sistema vertical, basándonos en que la tendencia observada es la implantación de este nuevo sistema, ya que, permite una mayor oxigenación y un mejor aprovechamiento del espacio.

Fue fundamental el descartado previo de los ejemplares dañados, ya que estos no serían resistentes al proceso y se degradarían dificultando la depuración efectiva de los demás individuos. “Otro factor a tener en cuenta cuando se trabaja con solénidos es la debilidad de sus músculos aductores, de forma que cuando llevan un tiempo desenterrados tiene lugar la progresiva apertura de las valvas entrando en un proceso de degradación irreversible. En este trabajo se pone de manifiesto la importancia de mantener los ejemplares atados en haces de 15-20 ejemplares para prevenir la apertura de las valvas, prolongando la vida de los ejemplares sin influir negativamente en la depuración, al igual que destacaron Younger et al. (2000). Este mismo autor resalta que los animales libres (no atados), debido al estrés, producen una cantidad de mucus que puede interferir en el proceso de depuración. La colocación horizontal de los lotes permite un mejor manejo en la planta, además de estar demostrado por Younger et al. (2000) que se obtienen mejores resultados que empleando la posición vertical.

Con las condiciones utilizadas conseguimos un 100% de supervivencia, obteniéndose al final de proceso individuos en buenas condiciones (las valvas cerraban bien, el color de la carne era óptimo y un buen nivel de respuesta al tocarles).

Los parámetros de temperatura y salinidad del agua circulante por los tanques estaban dentro de los márgenes indicados por Younger et al. (2000) para que este grupo de bivalvos presente una mejor actividad filtradora ( $S > 30\text{‰}$  y  $T > 5^{\circ}\text{C}$ ). Valores similares de estos parámetros, fueron indicados como óptimos para pectínidos (McNamara, 1996, Heath y Pyke, 2001 y Doré et al., 2003).

Los moluscos suelen presentarse más débiles en épocas de madurez, por lo que las experiencias fueron realizadas en noviembre, febrero y abril (navaja y longueirón), ya que, se encuentran en momentos diferentes del ciclo reproductivo (reposo sexual y madurez, respectivamente), según se desprende de los trabajos de Darriba et al. (2004 y 2005). Los resultados no manifestaron que exista un efecto del estado de desarrollo gonadal en la respuesta al proceso de depuración.

No se pueden establecer tiempos de depuración estándar para las especies, ya que, hay que tener en cuenta diversos factores: carga inicial de bacterias en las muestras, carga de ejemplares en los tanques y otros. En nuestras experiencias, con las niveles de contaminación de partida en *E. arcuatus*, se observó que a partir de 21 horas reunían los niveles exigidos para el consumo.

En conclusión, esta experiencia sirve de base para el establecimiento de unas condiciones de depuración adecuadas para este grupo de bivalvos, para superar los problemas con los que se encontraban hasta ahora en las plantas depuradoras. Consideramos imprescindible el descarte de los ejemplares dañados, la estabulación de los ejemplares a depurar en lotes de 15-20 unidades atados y colocados en posición horizontal.

## Subproyecto II: ASTURIAS

### Metodología.

Para llevar a cabo las pruebas de depuración, se utilizó la depuradora del Centro de Experimentación Pesquera de Castropol. En dicha depuradora el tratamiento y esterilización del agua se realiza a través de filtros de arena y lámparas de radiación ultravioleta.

Las bacterias indicadoras de contaminación fecal en el medio son los Coliformes fecales, siendo *E. coli* la especie indicadora y, por lo tanto la que debemos cuantificar.

El recuento de Coliformes en carne de molusco se realiza mediante el método estadístico del número más probable (NMP), utilizando 3 series de 5 tubos (verde brillante). Tras incubar estos tubos durante 24h a 37°C previamente inoculados con 10, 1 y 0,1 ml de muestra (homogeneizado de carne + líquido intervalvar del molusco) los positivos, aquellos que presenten crecimiento con formación de gas, serán reinoculados e incubados a 44°C durante 24 horas. La formación de gas nos indicará el crecimiento de *E. coli*. y el resultado será *E. coli*/100 g de carne y líquido intervalvar.

En cada análisis realizado se utilizaron 15 ejemplares por tiempo de depuración.

La lectura a las 48 horas de incubación, se realizó siguiendo la siguiente pauta:

Gas(+) Indol(+). . . . . *E. coli*

Gas(+) Indol(-). . . . . C. fecales

Gas(-) Indol(+). . . . . negativo

Gas(-) Indol(-). . . . . negativo

Se llevaron a cabo 2 experiencias, una en el 2004, para comparar diferentes métodos de estabulación y otra en el 2005, con diferentes métodos de captura.

El tamaño de muestra para cada prueba fue de 100 ejemplares de talla superior a los 80mm. Se tomaron 15 individuos para el análisis de las 0 horas con el fin de cuantificar el grado de contaminación inicial y el resto se pasó a las piscinas de depuración.

La primera prueba de depuración se llevó a cabo en el mes de noviembre con una temperatura del agua de 12,5°C y salinidad de 32,0‰ con ejemplares capturados con sal y estabulados en posición vertical y horizontal

La disposición de los individuos en vertical se realizó para imitar su posición en el medio natural, para ello, se dispusieron en tubos de PVC de 10cm de largo y 8cm de

diámetro, lo que nos permitió introducir 15 individuos. En la base de cada tubo se colocó una malla de 2 mm de luz para evitar que introdujeran el pié y ser dañados y a su vez en sacos suspendidos a una distancia de 15cm del suelo de las piscinas.

La estabulación en horizontal en cajas, es el método que se utiliza tradicionalmente. Se realizaron lotes de 15 individuos sujetos por una goma elástica.

En el mes de septiembre del 2005, con una temperatura del agua de 15,5°C y salinidad de 34,0‰, se depuraron dos lotes, uno capturado con sal y otro mediante el arte de la “fisga”, arpón que se introduce en el sustrato una vez localizado la señal que deja la navaja cuando se entierra. La estabulación se realizó en cajas, en posición horizontal y en paquetes de 15 ejemplares sujetos con una goma elástica.

Las muestras estabuladas, una vez depuradas, se mantuvieron en las piscinas para determinar el tiempo de supervivencia en las citadas condiciones.

### Resultados y discusión.

Tabla XI.- Resultados de depuración con diferentes métodos de estabulación

<u>Tiempo de depuración</u>	<u>Depuración en vertical</u>		<u>Depuración horizontal</u>	
	<u><i>E. coli</i>/ 100g muestra</u>	<u>Categoría</u>	<u><i>E. coli</i>/ 100g muestra</u>	<u>Categoría</u>
0 horas	1.300	B	200	A
6 horas	750	B	50	A
12 horas	200	A	20	A
24 horas	40	A	0	A
48 horas	20	A	0	A

En la tabla XI observamos que ambos lotes presentan una buena cinética de depuración. La estabulación horizontal, con una carga inicial de 1.300 *E.coli*/100g, estaría depurado a las 12 horas. El lote estabulado horizontalmente, aunque la carga inicial es baja, también continua con su proceso de filtrado y eliminación de la carga

bacteriana. La supervivencia, en ambos casos, es del 100% a las 48 horas y del 98% a los 8 días de estabulación.

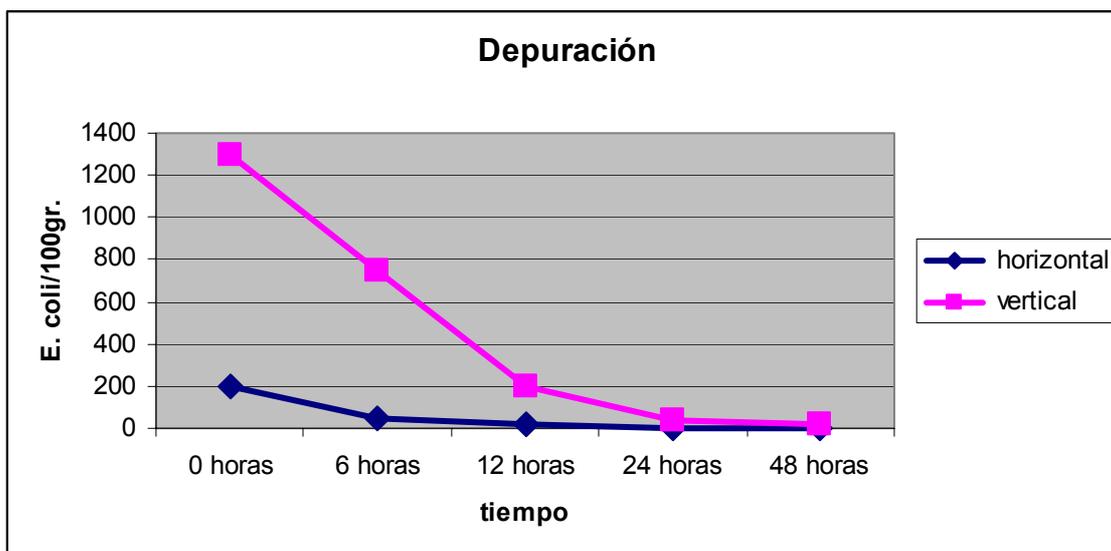


Fig.35.- Curva de depuración en estabulación horizontal y vertical.

Durante el año 2005, se llevaron a cabo nuevas pruebas de depuración en función de los distintos artes de pesca, con sal y con fisga, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla XII.- Resultados de depuración con diferentes métodos de captura.

Tiempo de depuración	Captura con sal		Captura con "fisga"	
	<i>E. coli</i> /100g muestra	Categoría	<i>E. coli</i> /100g muestra	Categoría
0 horas	750	B	750	B
24 horas	110	A	2.200	B

Como podemos observar en la tabla XII, los ejemplares capturados con sal entran con unas condiciones fisiológicas que le permiten filtrar y depurar en pocas horas de estabulación, en este caso a las 24 horas tendríamos un producto totalmente depurado y apto para el consumo, sin embargo aquellos ejemplares capturados con el arte de la "fisga" entran dañados y en unas condiciones que no les permite la filtración y

depuración, produciéndose una recontaminación y mortalidad total a las 72 horas de estabulación.

## **Subproyecto III: CANTABRIA**

### **Metodología**

Para llevar a cabo las pruebas de depuración, se utilizaron las piscinas de dos depuradoras privadas situadas en San Vicente de la Barquera; el agua de las piscinas estaba a 13°C y en la otra a 18°C; el tratamiento y esterilización del agua se realiza a través de filtros de arena y de lámparas de radiación U.V.

Las bacterias indicadoras de contaminación fecal son los E.coli y, por lo tanto la que cuantificamos.

El recuento en carne de molusco se realiza mediante el método estadístico del número mas probable (NMP), utilizando 3 series de 5 tubos (verde brillante).Tras incubarlos durante 24h a 37°C previamente inoculados con 10, 1 y 0,1 ml de muestra (un homogeneizado de carne mas líquido intervalvar) serán positivos aquellos que presenten crecimiento con formación de gas, siendo ésta la fase PRESUNTIVA de presencia de coliformes fecales.

La prueba CONFIRMATIVA para determinar E.coli se realiza sembrando estos tubos positivos durante 24h a 44°C y la formación de gas nos indica el crecimiento de E.coli. La cuantificación se realiza por el método del NMP y el resultado es de E.coli por 100 gramos de carne y de líquido intervalvar.

En cada análisis se utilizaron 15 ejemplares por periodo de depuración y la lectura se realizó de acuerdo a :

- Gas (+) Indol (+)-----E.coli
- Gas (+) Indol (-)-----C.fecales
- Gas (-) Indol (+)-----negativo-
- Gas (-) Indol (-)-----negativo

Los métodos de estabulación fueron vertical y horizontal, los ejemplares se capturaron con sal. Los individuos seleccionados para el estudio fueron 100.Se analizaron 15 ejemplares para el análisis a las 0h para cuantificar el grado de contaminación inicial y los restantes se pusieron en las piscinas de depuración.

Vertical: Se colocaron 15 ejemplares atados con goma elástica en recipientes de malla dura de diferente capacidad dependiendo del tamaño de los ejemplares y en la base se colocó una malla de paso de luz de 2mm.Estos recipientes se colgaron y suspendieron en las piscinas a varios cm. del suelo .

Horizontal 1.-Se colocaron 15 ejemplares atados con goma elástica en las bandejas de depuración actuales.

Horizontal 2.-Se colocaron los ejemplares agrupados entre si, pero sin goma en las bandejas de depuración actuales.

Los ejemplares no extraídos para depurar se dejaron en las piscinas para ver el tiempo de supervivencia.



Fig. 36.-*Solen marginatus* en manojos verticales

## Resultados y discusión

AÑO 2003

Muestra recogida con 100 ejemplares el 19 de Noviembre de 2003.

La depuración se realizó con la T<sup>a</sup> del agua a 18°C.

Tabla XIII.-Depuración en varios tiempos y distintas estabulaciones. Año 2003

	0h	6h	12h	20h	24h
Horizontal en manojos	4,8.10 <sup>1</sup>	4,8.10 <sup>1</sup>	0,0	0,0	0,0
Vertical en manojos	4,8.10 <sup>1</sup>	5	0,0	0,0	0,0
Horizontal agrupados	4,8.10 <sup>1</sup>	4,8.10 <sup>1</sup>	0,0	0,0	0,0

Como se observa en la tabla XIII La carga inicial fue muy baja y no se necesitaba depuración .

Los ejemplares restantes se mantuvieron en la piscina y la supervivencia fue del 90 % al segundo día.

AÑO 2004

Muestra recogida con 100 ejemplares el 27 de Septiembre de 2004.

La depuración se realizó con la T<sup>a</sup> del agua a 18°C.

Tabla XIV.-Depuración en varios tiempos y distintas estabulaciones.Año 2004

	0h	6h	12h	20h	24h
Horizontal en manojos	1,1.10 <sup>3</sup>	5,4.10 <sup>2</sup>	3,5.10 <sup>2</sup>	2,2.10 <sup>2</sup>	75
Vertical en manojos	1,1.10 <sup>3</sup>	9,2.10 <sup>2</sup>	9,2.10 <sup>2</sup>	3,5.10 <sup>2</sup>	3,5.10 <sup>2</sup>
Horizontal agrupados	1,1.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>3</sup>	3,5.10 <sup>2</sup>	75	0,0

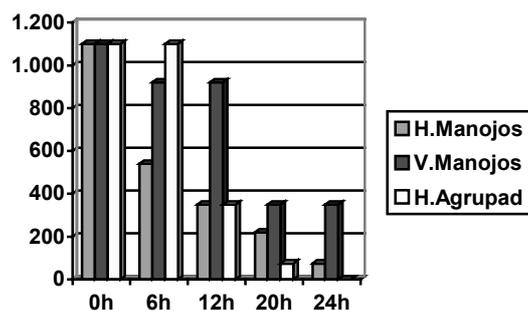


Fig. 37.-Relación entre *E.coli* y tiempo de depuración.

Como se ve en la tabla XIV y figura 37, en estos resultados observamos que en horizontal (en ambas posiciones) depuraron en un tiempo de 20 horas y se necesita un tiempo superior a 24 horas para que depuren en posición vertical

Los ejemplares restantes se mantuvieron en la piscina y la supervivencia fue del 90% al cuarto día.

Muestra recogida con 100 ejemplares el 27 de Septiembre de 2004.

La depuración se realizó con la Tª del agua a 13°C.

distintas estabulaciones. Año 2004

Tabla XV.-Depuración en varios tiempos y distintas estabulaciones. Año 2004

	0h	6h	12h	20h	24h
Horizontal en manojos	$1,1 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$	75	0,0
Vertical en manojos	$1,1 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^2$	$5,4 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^2$	0,0
Horizontal agrupados	$1,1 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^2$	0,0	0,0

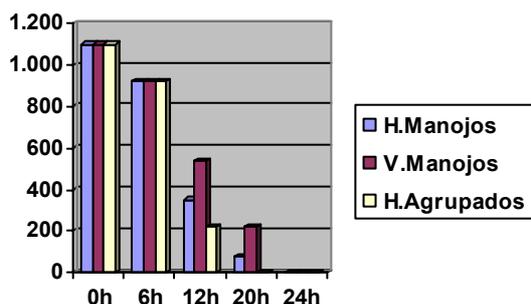


Fig. 38.-Relación entre *E.coli* y tiempo de depuración.

Como se ve en la tabla XV y figura 28, de estos resultados deducimos que en todas las estabulaciones con un tiempo de 20 horas depuraban siendo de 12 horas cuando estaban en horizontal y agrupadas entre si.

La supervivencia fue del 100% al cuarto día.

AÑO 2005

Muestra recogida con 100 ejemplares el 17 de Noviembre de 2005

La depuración se realizó con la Tª del agua a 18°C.

Tabla XVI.-Depuración en varios tiempos y distintas estabulaciones. Año 2005

	0h	6h	12h	20h	24h
Horizontal en manojos	$4,8 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^2$	$7,5 \cdot 10^1$	$3,1 \cdot 10^1$	5,0
Vertical en manojos	$4,8 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^1$	4,0	0,0
Horizontal agrupados	$4,8 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^2$	2,0	0,0

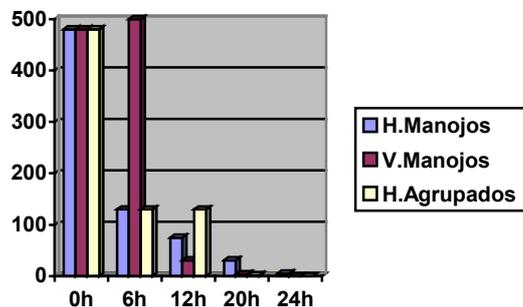


Fig. 39.- Relación entre *E.coli* y tiempo de depuración.

Como se observa en la tabla XVI y figura 39, dado que la carga inicial fue muy inferior a la del año 2004 los tiempos de depuración fueron más bajos.

Con un tiempo de 6 horas depuraron todos los que estaban en estabulación horizontal y con un tiempo de 12 horas los que estaban en vertical.

**Con los resultados de los tres años concluimos:**

- 1.-Que los ejemplares de *Solen marginatus* son factibles de depuración.
- 2.-Que los ejemplares en estabulación horizontal (agrupados o en manojos) depuran en un tiempo de 20h como máximo y que este tiempo varía con la carga bacteriana inicial siempre que ésta sea  $\leq 1,1 \cdot 10^3$  (carga máxima de este estudio)
- 3.-Que los ejemplares en posición vertical depuran en un tiempo superior a 24 horas con cargas iniciales altas de  $1,1 \cdot 10^3$  y que cuando la carga bacteriana inicial es baja depuran más rápidamente, o sea en menos tiempo.
- 4.-Que si la temperatura del agua es mas baja necesitan menos tiempo de depuración para la misma carga bacteriana; sería conveniente poder seguir este estudio para ver si se confirma los resultados observados.
- 5.-La supervivencia durante y después de la depuración es alta, entre 90 y 100% - dependiendo de la temperatura del agua –para tiempos superiores a 3 días; siendo del 100% cuando la temperatura del agua es de 13°C y del 90% cuando la temperatura del agua es del 18°C.

**JACUMAR - Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos**

Archivo Edición Ver Favoritos Herramientas Ayuda

Atrás Búsqueda Favoritos

Dirección [http://www.mapya.es/jacumar/planes\\_nacionale/presentacion.asp](http://www.mapya.es/jacumar/planes_nacionale/presentacion.asp) Ir

Google JACUMAR Buscar 1 bloqueado(s) Corrector ortográfico Opciones JACUMAR

Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos **JACUMAR**

**PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS**

**¿QUÉ SON LOS PLANES NACIONALES?**

**FUNDAMENTO LEGAL**

Los Planes Nacionales son creados por la Ley 23/1984 de Cultivos Marinos, en cuyo artículo 25 se establece que el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación podrá proponer a las Comunidades Autónomas este tipo de iniciativas. Se elaborarán conjuntamente entre el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y las Comunidades Autónomas y serán ejecutados por estas últimas en el ámbito de sus competencias estatutarias. El seguimiento de los planes lo realizará la Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos.

**OBJETIVOS ACTUALES**

 Un Plan Nacional es una acción destinada al fomento y desarrollo de la acuicultura marina de forma armónica en el territorio nacional. Se orientan al logro de objetivos específicos suficientemente concretos como para eliminar generalidades y ambigüedades y que sean de interés para una parte significativa de nuestro país.

Los objetivos pueden ser tanto de investigación, desarrollo e innovación como de cualquier otra actividad relacionada con la acuicultura cuya consecución se considere importante para el desarrollo armónico de la actividad acuícola.

Ejemplos de objetivos pueden ser el desarrollo del cultivo del pulpo o la puesta a punto de nuevas jaulas para cultivo en mar abierto.

**FUNCIONAMIENTO**

Los Planes se identifican y se aprueban en JACUMAR. Por regla general, son propuestos por Comunidades Autónomas aunque no se excluye la posibilidad de su propuesta por otra parte interesada.

**¿Qué son los Planes Nacionales?**

**Histórico**

**Resumen de los Planes Iniciados en el Año 2000**

**Resumen de los Planes Iniciados en el Año 2003-2004**

CONTACTAR  
JACUMAR@MAPYA.ES

Listo Inicio Informe final total - M... JACUMAR - Junta Na... Internet 11:54

## LÍNEA VI: INFORMACIÓN EN LA WEB

## **Línea 6: INTEGRACIÓN DE TODA LA INFORMACIÓN GENERADA A NIVEL NACIONAL EN RELACIÓN CON LOS SOLÉNIDOS.**

### RESUMEN

Está disponible en la nueva página Web del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación un espacio con información sobre bibliografía relativa a las especies de solénidos que aparecen en Europa y los últimos datos disponibles de la explotación de Solénidos en España, por Comunidades Autónomas. <http://www.mapya.es/jacumar/>

La base de datos bibliográfica se incluyen más de 150 registros de artículos y otro tipo de publicaciones referidas a alguna especie de solénido. La búsqueda se puede realizar por autor, palabras clave o título. Se incluyen también las comunicaciones realizadas durante la realización del proyecto en foros y congresos nacionales e internacionales.

En el apartado de “últimos datos publicados”, se accede a la información de la explotación del último año.

# **Informe por Subproyectos:**

## **Subproyecto I: GALICIA**

### **Metodología**

#### 1. Base de datos bibliográfica.

Durante todo el período de duración del proyecto, se realizaron búsquedas bibliográficas en revistas del Science Citation Index (SCI), en resúmenes de congresos nacionales e internacionales, en publicaciones en revistas no englobadas en el SCI y en otro tipo de documentos (libros, informes técnicos...) relacionadas con alguna especie de solénido de las que se encuentran en Europa.

Para la realización de las búsquedas y la obtención de la bibliografía localizada se manejaron buscadores electrónicos de bases de datos bibliográficas (ISI Web of Knowledge, google, scirus), fondos bibliotecarios de la biblioteca del CIMA y de la Universidade de Vigo, así como peticiones por préstamo interbibliotecario con el servicio de documentación del CSIC (CINDOC).

Con los registros obtenidos se elaboraron dos bases de datos bibliográficas empleando los programas Procite (específico para bibliografía) y Access (base de datos de uso común). La base de datos elaborada con el Procite se emplea internamente por los investigadores y la base de datos en Access ha sido necesaria para poder trasladar la información a la página Web.

#### 2. Información de la explotación.

Para la realización de este apartado, cada Comunidad Autónoma participante en el proyecto aportó los datos de explotación de las especies que posee en su litoral, así como las artes de pesca...

Toda la información reunida se muestra en la página Web a partir de un mapa de España en el que se resaltan las comunidades con el icono de su bandera oficial, sirviendo de enlace para bajar la información relativa a cada autonomía.

## Resultados y discusión

El resultado obtenido de esta línea se puede encontrar en la página Web <http://www.mapya.es/jacumar/> (figura 40), donde se pueden realizar búsquedas bibliográficas sobre solénidos a partir de palabras clave, autor o título. A su vez, se puede acceder a los últimos datos publicados relativos a la explotación, además de información de las especies y artes empleadas en cada Comunidad Autónoma (figura 31).

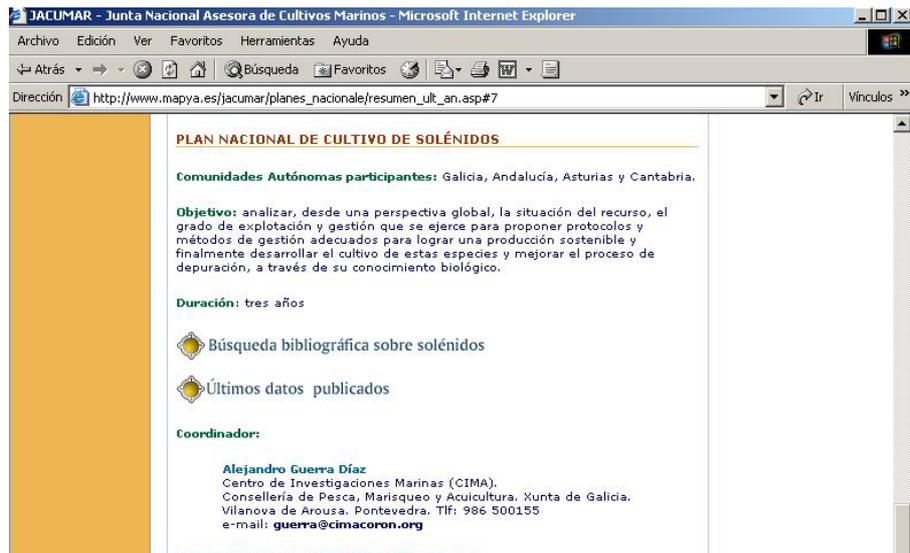


Fig. 40. Pantalla donde figura la información del Plan Nacional de Cultivo de Solénidos y se encuentran los iconos donde se puede iniciar la búsqueda bibliográfica o el acceso a los últimos datos publicados



Fig. 41 Pantalla de información geográfica de los últimos datos publicados.

## Bibliografía

- Darriba, S. 2001. Biología de la navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865) de la Ría de Vigo (N.O. de España): Crecimiento y Reproducción. Tesis Doctoral. Universidad de Vigo. 283 pp.
- Darriba, S., San Juan, F. & Guerra, A. 2004. Reproductive cycle of the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in northwest Spain and its relation to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **311**: 101-115.
- Darriba, S., San Juan, F. & Guerra, A. 2005. Energy storage and utilization in relation to the reproductive cycle in the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865). *ICES Journal of Marine Science*. **62**: 886-896.
- Darriba, S., San Juan, F. & Guerra, A. 2005. Gametogenic cycle of *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in the Ría de Corcubión, Northwestern Spain. *Journal of Molluscan Studies*. **71**: 47-51.
- Darriba, S. & Miranda, M. (en prensa). Impacto del descenso de la salinidad en la reproducción de la navaja (*Ensis arcuatus*). *VIII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*.
- Del Castillo y Rey, F. & al. 2001. Estudio integral sobre el estado actual de las poblaciones de longueirón (*Solen marginatus*) y su pesquería en la provincia de Huelva. Dirección General de Pesca y Acuicultura. Informe no publicado. 210 pp.
- Doré, W., Farthing, J. & Laing, I. 2003. Depuration conditions for great scallops (*Pecten maximus*). *Journal of Shellfish Research*. **22**: 409-414.
- Drew, G.A. 1907. The habits and movements of the razor shell clam, *Ensis directus*, Conrad. *Bio. Bull.* **12**: 127-140.
- Fahy, E. & Gaffney, J. 2001. Growth statistics of an exploited razor clams (*Ensis siliqua*) bed at Gormanstown, Co Meath, Ireland. *Hydrobiologia*. **465**: 139-151.

- Gaspar, M.B. & Monteiro, C.C. 1998. Reproductive cycles of the razor clam *Ensis siliqua* and the clam *Venus striatula* off Vilamoura, Southern Portugal. *J. Mar. Bio. Ass. U.K.* **78**: 1247-1258.
- Hauton, C., Hall-Spencer, J.M. & Moore, P.G. 2003. An experimental study of the ecological impacts of hydraulic bivalve dredging on maerl. *ICES Journal of Marine Science.* **60**: 381-392.
- Heath, P. & Pyke, M. 2001. King scallop (*Pecten maximus*) depuration trials. *Journal of Shellfish Research.* **20**: 117-120.
- Joly, J. P. 1982. Contributions a la biologie de la palourde *Ruditapes decussatus* L. Ph. D. Thesis. Universite Pierre et Marie Curie, Paris
- Le Roux, F.; Audemard, C.; Barnaud, A.; Berthe, F. 1999. DNA probes as potential tools for the detection of *Marteilia refringens*. *Marine Biotechnology*, **1**: 588-597.
- López-Flores, I.; de la Herrán, R.; Garrido-Ramos, M. A.; Navas, J. I.; Ruiz Rejón, C.; Ruiz Rejón, M. 2004. The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiations between *Marteilia* strains infecting oyster and mussels based on the rDNA IGS sequence. *Parasitology*, **129**: 411-419.
- López-Flores, I.; Robles, F.; de la Herrán, R.; Garrido-Ramos, M. A.; Ruiz Rejón, C.; Ruiz Rejón, M.; Navas, J. I. 2005. Aplicación de marcadores moleculares para el diagnóstico de parásitos en bivalvos. *Libro de Resúmenes. Congreso de la Sociedad Española de Genética (SEG 2005)*. Roquetas de Mar, Almería, 5-7 de octubre 2005
- Luna, L. G., 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third Edition. *McGraw-Hill Book Company*, New York, USA, 258 pp.

- Martínez, D., Rodríguez-Moscoso, E., Arnáiz, R., Novoa, S. & Ojea, J. 1997. Gametogénesis y composición bioquímica en una población de *Ensis siliqua* (Linné, 1758) en la Ría del Barquero (N Galicia). *VI Congreso Nacional de Acuicultura*.
- Martínez-Patiño, D. 2002. Estudio de Solénidos, *Solen marginatus* (Pennánt, 1777) y *Ensis siliqua* (Linné, 1758), de los bancos naturales de la Ría de Ortigueira y Ría del Barquero: ciclo gametogénico, composición bioquímica y cultivo larvario. *Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela*, 240 pp.
- McNamara, J. 1996. Degritting of King Scallops. *Seafish report No SR468. Hull, UK: Seafish Industry Authority*.
- Tuck, I.D., Bailey, N., Harding, M., Sangster, G., Howell, T., Graham, N. & Breen, M. 2000. The impact of water jet dredging for razor clams, *Ensis* spp., in a shallow sandy subtidal environment. *Journal of Sea Research*. **43**: 65-81.
- Younger, A., Boulter, M. & Pyke, M. 2000. Determination of appropriate conditions for the depuration of razor clams. CEFAS. *Shellfish News*. **9**: 16-18.

## Anexo

### Divulgación de resultados

- Conchas, R.F., Alonso, B. & Montes, J., 2005. Patologías asociadas a solénidos: *Ensis arcuatus* (Navaja) y *Ensis siliqua* (Longueirón) en Galicia. *La acuicultura como actividad económica en las zonas costeras. IX Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de actas.*, 253-256.
- \*Conchas, R.F., López, C., Darriba, S., Iglesias, D. & Montes, J., 2004. Bucephalidae trematodes affecting the Razor-clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) from the coast of Galicia (NW Spain). *IX European Multicolloquium of Parasitology. Valencia, Spain. Julio. Programme and Abstracts.*, 576.
- Conchas, R.F., Montes, J., López, C., Darriba, S. & Iglesias, D., 2004. Bucephalidae trematode affecting razor clam *Ensis arcuatus* from the coast of Galicia (NW Spain). *Multidisciplinarity for parasites, vectors and parasitic diseases*, 505-509.
- da Costa, F. En evaluación. Culture of 3 commercial razor clam species in galicia (nw spain). *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia 2006.*
- da Costa, F., 2004. Optimización del cultivo de longueirón vello (*Solen marginatus* Pennánt, 1777): En las fases de criadero y medio natural. *Diploma de Estudios Avanzados. Universidad de santiago de Compostela. Centro de Investigaci3n Mariñas. Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos.*, 83 pp.
- da Costa, F. , Darriba, S. & Martínez, D., 2005. Desarrollo embrionario y larvario de *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) al microscopio electrónico de barrido. *La Acuicultura, fuente de pescado de calidad para el futuro. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía (Valencia), 2005. Libro de Resúmenes. Tomo II*, 610-611.
- \*da Costa, F. , Darriba, S., Martínez, D. & Guerra, A., 2004. Conditioning broodstock of the commercial razor clam *Solen marginatus* (Pennántt, 1777). *Aquaculture Europe'04. Biotechnologies for Quality. EAS. Special Publication. n° 34*, 255-256.
- da Costa, Martínez, D. & Guerra, A. En evaluación. Conditioning effects of the razor clam *solen marginatus* upon larval and postlarval culture. *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia 2006.*
- \*da Costa, F., Nóvoa, S., Martínez, D. & Guerra, A., 2004. Seed culture of the razor clam *Solen marginatus*. *Aquaculture Europe'04. Biotechnologies for Quality. EAS. Special Publication. n° 34*, 257-258.
- \*da Costa, F. , Ojea, J. & Martínez, D., 2005. Acondicionamiento del solénido *Ensis arcuatus* en 2 regímenes de temperatura: relación con las proteínas y el glucógeno. *La Acuicultura, fuente de pescado de calidad para el futuro. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía (Valencia), 2005. Libro de Resúmenes. Tomo II*, 608-609.
- Darriba, S., En evaluación. Razor clams and aquaculture: studies in Galicia (NW Spain). *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia. 2006*

- \*Darriba, S. , & Miranda, M. 2005. Impacto del descenso de la salinidad en la reproducción de la navaja (*Ensis arcuatus*). *VIII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove*.
- \*Darriba, S. , Miranda, M., Da Costa, F. & Catoira, J.L., 2004. Estudios para la gestión de la explotación de Solénidos. *VII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove.*, 215-220.
- \*Darriba, S., Miranda, M., Da Costa, F. & Guerra, A., 2004. Reproductive study of the razor clam *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in Galicia (NW Spain). *Aquaculture Europe'04. Biotechnologies for Quality. EAS. Special Publication. n° 34.*, 265-266.
- \*Darriba, S., Miranda, M. & Guerra, A., 2005. Estudio reproductivo de los bivalvos *Ensis arcuatus* y *Ensis siliqua* en distintos bancos naturales de Galicia (NO España). *La Acuicultura, fuente de pescado de calidad para el futuro. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía (Valencia), 2005. Libro de Resúmenes. Tomo II*, 510-511.
- Darriba, S. , San Juan, F. & Guerra, A., 2005. Metabolismo reproductivo de la navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865): Acumulación y movilización de lípidos de reserva durante el ciclo gametogénico. *La acuicultura como actividad económica en las zonas costeras. IX Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de actas.*, 201-204.
- Guerra, A., 2005. Logros en el estudio de Solénidos comerciales, en Galicia, a través del Plan Nacional JACUMAR. *La Acuicultura, fuente de pescado de calidad para el futuro. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía (Valencia), 2005. Libro de Resúmenes. Tomo II*.
- López, C., Darriba, S. & Conchas, R.F., 2005. Presencia de *Marteilia* sp. en *Solen marginatus* (Pennántt, 1777) en Galicia (NO España). *Acta Parasitológica Portuguesa. Revista da Sociedade Portuguesa de Parasitologia.*, **12**, 517-518.
- \*López, C., Darriba, S., Miranda, M. & Álvarez, C., 2005. Depuración de *Ensis arcuatus* y *Ensis siliqua* (Solenacea). *La Acuicultura, fuente de pescado de calidad para el futuro. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía (Valencia), 2005. Libro de Resúmenes. Tomo II*, 624-625.
- López, D., Darriba, S., Cutrín, J.M. & Conchas, R.F. En evaluación. Presence and characterization of *Marteilia* sp. in razor clam, *Solen marginatus* (Pennántt, 1777) in Galicia (NW Spain). *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia. 2006*
- López, J., 2005. Ciclo gametogénico de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) (Mollusca: Bivalvia) en las rías del Eo y Villaviciosa: influencia de los parámetros ambientales. *Seminario de Investigación. Universidad de Oviedo*.
- \*López, J., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., 2005. Comparativa del ciclo reproductivo de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) (Mollusca: Bivalvia) en las rías del Eo y Villaviciosa (Asturias): Relación con los parámetros ambientales. *La Acuicultura, fuente de pescado de calidad para el futuro. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía (Valencia), 2005. Libro de Resúmenes. Tomo II*, 518-519.

- López-Ruíz, J., da Costa, F., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., en evaluación. Biological indexes variability in *Solen marginatus* (Mollusca: Bivalvia) . *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia.* 2006
- López-Ruíz, J., da Costa, F., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., en evaluación. Biometrical analyses of two natural beds of *Solen marginatus* (Mollusca: Bivalvia). *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia.* 2006
- López-Ruíz, J., da Costa, F., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., en evaluación. Food availability influence during spawning season in two natural beds of *Solen marginatus* (Mollusca: Bivalvia). *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia.* 2006
- López-Ruíz, J., da Costa, F., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., en evaluación. Preferent patterns of distribution of *Solen marginatus* (Mollusca: Bivalvia) in the Eo estuary natural beds (Asturias, Spain). *Congreso Internacional de Acuicultura. Florencia.* 2006.
- López-Ruíz, J., F., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., en evaluación. Nutrients mobilization for reproduction in *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) . *X International Symposium on Oceanography of the Bay of Biscay. Vigo. April 19-21.*
- López-Ruíz, J., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., en evaluación . Investment strategies of energy in growth for natural populations of Bivalve Mollusc *Solen marginatus* (Pulteney, 1799), depending on food availability. *X International Symposium on Oceanography of the Bay os Biscay. April 19-21.*
- \*López Ruíz, J., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., 2004. Estudio de las poblaciones naturales de *Solen marginatus* del Principado de Asturias. *VII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove.*, 205.
- \*López Ruíz, J., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., 2004. Pruebas de depuración de *Solen marginatus* en distintas condiciones de estabulación: horizontal y vertical. *VII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove.*
- \*López, J., Rodríguez, C. & Carrasco, J.F., 2005. Densidad y distribución de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) (Mollusca: Bivalvia) en los bancos naturales de la ría del Eo (Principado de Asturias). *VIII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove.*