

CAPÍTULO X: C.A. GALICIA

1. PROYECTO: CULTIVO DE ERIZO DE MAR (*Paracentrotus lividus*) EN EL LABORATORIO Y SEGUIMIENTO EN EL MEDIO NATURAL.

AÑO:

Comienzo del plan: 1993
Finalización del plan: 1994

OBJETIVOS:

El objetivo de este proyecto es la obtención de juveniles destinados a la siembra y posterior seguimiento de las poblaciones en el medio natural, con la finalidad de obtener datos que establezcan la viabilidad de la recuperación de zonas sobreexplotadas mediante normas técnicas que contribuyan a la continuidad del recurso.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.
Centro: Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Jose Luis.
Apellidos: Catoira Gómez.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El proyecto se lleva a cabo en las instalaciones del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo (Consellería de Pesca) y en instalaciones de cultivo en autorización temporal experimental otorgadas para el mismo por la Consellería de Pesca en zonas costeras de las Ensenadas de Mera y Lorbé en La Coruña (polígono Sada-A de bateas de mejillón en la Ría de Ares Betanzos).

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

Metodología:

El Proyecto se centra en el cultivo larvario de *Paracentrotus lividus* con especial referencia a la fijación, con el objetivo de la obtención de juveniles destinados a la siembra, y en el posterior seguimiento de las poblaciones en el medio natural, con la finalidad de obtener datos que establezcan la viabilidad de la recuperación de zonas sobreexplotadas mediante el establecimiento de normas técnicas que contribuyan a la continuidad del recurso.

El desarrollo del Programa se ha estructurado en dos unidades coordinadas. La primera consistente en la producción de juveniles en el Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo (CCMR), realizándose el cultivo larvario, la fijación y la estabulación de juveniles en sistemas tipo "tobogán" y otros, así como estudios específicos sobre la alimentación y la metamorfosis. La segunda se fundamenta en el diseño, elaboración y establecimiento de sistemas de cultivo en el medio natural con el objetivo del estudio de las poblaciones

introducidas en estos sistemas, con especial referencia a las tasas de supervivencia y al crecimiento.

En el CCMR se acondiciona una superficie interior de aproximadamente 75 m² para el cultivo larvario, que exige modificaciones en la instalación de abastecimiento de agua caliente - fría filtrada por UV, líneas de aireación y otras obras menores que permiten la concentración del cultivo de erizo en esa superficie, al disponer en ella también el "tobogán" de mantenimiento de juveniles y tanques (de 1500 litros para estabulación de progenitores y de 1100 litros para el acondicionamiento de post-larvas). Para el cultivo larvario se utilizan 20 tanques de 160 litros con diseño específico.

La búsqueda y obtención de progenitores se llevó a cabo en la zona infralitoral con ayuda de escafandra autónoma y sobre la intermareal inferior en localidades próximas al Centro de Cultivos de Ribadeo. Una vez localizadas las poblaciones de erizo, se procedía a la recogida de individuos adultos en número suficiente para su acondicionamiento y posterior tratamiento en el laboratorio.

Los progenitores eran estabulados en panniers del tipo utilizado para el cultivo suspendido de ostra, dentro de tanques de 1.500 litros de capacidad con circuito abierto de agua de mar filtrada, manteniéndose con aireación constante, temperatura ambiente y aportándose inicialmente alimento basado en macroalgas, fundamentalmente del género *Laminaria*.

La estimulación a la puesta requiere la colocación invertida de los individuos sobre vasos de precipitados conteniendo agua de mar axénica filtrada por ultravioleta, con su zona periproctal en contacto con la superficie del líquido para asegurar la inmersión de los poros genitales en el medio. La temperatura del agua es de 20°C y la estimulación se realiza por medio de descargas eléctricas o por el método más efectivo de la inoculación vía peristomial de sales potásicas.

La puesta en los machos se visualiza en forma fibrilar continua de color blanco, pudiendo los óvulos, de color anaranjado, ser emitidos en continuo o en glomérulos. Cada hembra puede poner varios millones de óvulos, que serán filtrados por malla de 250 micras a recipientes con agua de mar estéril a temperatura ambiente. La estimulación a la puesta de los progenitores se consigue con la inoculación, vía peristomial, de dosis variables de permanganato potásico 0,1 N. La fecundación se realiza por adición, en bandejas con puesta α en reposo, de pequeñas cantidades de gametos (para evitar polispermia) según el número de óvulos obtenidos.

En estas operaciones se utilizan filtros y agua de mar esterilizada, consiguiendo porcentajes de fecundación de hasta el 100 %, manteniéndose a continuación un corto período de reposo.

La lupa binocular y el microscopio son utilizados para el conteo de óvulos, repetitivo y estimado volumétricamente. Su talla es muy uniforme, de alrededor de 90 micras de diámetro. Tras la conjunción de los gametos se forma una membrana de fecundación, visible a la lupa a continuación de la inseminación. El citoplasma de los huevos tiene una estructura más finamente granulosa que la del óvulo. Los huevos son de escaso vitelo y pertenecen al tipo oligolecito, siendo por tanto la segmentación total, que es igual y radial en las tres primeras divisiones, en sus estadios de 2, 4 y 8 blastómeros, para devenir enseguida desigual en los estadios de 16, 32 y 64 blastómeros, y desapareciendo rápidamente la disposición radial.

La segmentación del huevo culmina con la formación de una celoblastula ciliada, que a las 24 horas de la fecundación sufre la invaginación del endodermo en el proceso de Gastrulación. En la gástrula distinguimos el blastoporo o abertura del

arquenteron que aparece como un tubo interno y las vesículas celómicas en la parte más interna de la invaginación, apareciendo granulado en su interior el mesénquima.

A las 24 horas de la fecundación se produce la formación de la larva *Pluteus* definitiva, que presenta cuatro brazos (dos preorales y dos postorales), sostenidos por varillas calcáreas, rodeando la depresión bucal. Nada girando sobre sí misma, con los brazos dirigidos en el sentido del desplazamiento. De hecho, al ser rígidos, estos brazos no sirven más que de flotadores pasivos, siendo la banda ciliada circum-oral el verdadero aparato locomotor. A las dos semanas de vida se observan distintas clases de talla y aparece el estado de 6 brazos en las larvas más desarrolladas, con dos nuevos posterodorsales. Nueve días más tarde algunas de estas últimas se presentan ya con el estado de 8 brazos, incorporándose dos anterolaterales.

Los huevos obtenidos son transferidos a tanques de cultivo larvario en circuito cerrado, de 160 l de capacidad, en los que se mantuvo una densidad media de 7 larvas/ml (Max:12, min:2), manteniéndose una discreta aireación y controlándose la temperatura, con regulación constante a 20°C.

Los tanques de cultivo larvario son cilindro - cónicos para facilitar su vaciado, realizándose una o dos renovaciones de agua a lo largo del proceso, de duración variable, oscilando entre 20 y 30 días. Se experimenta también el cultivo en oscuridad total en tanques opacos. Para la alimentación de las larvas se utilizan cultivos axénicos de microalgas, obtenidos a partir de cepas monoespecíficas, desarrollados en botellones con agua de mar esterilizada y con aporte de nutrientes en volúmenes de 5 a 10 l. El primer aporte de alimento se produce a los dos días de la fecundación, utilizándose microalgas de las especies *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis suecica* durante los primeros días y una mezcla con diatomeas (*Phaeodactylum tricornutum* - *Chaetoceros calcitrans* - *Skeletonema costatum*) hasta la fijación, siendo las concentraciones diarias superiores a 300 células/ml.

El primordio o embrión equiniano se presenta después de 30 días de vida de la *Pluteus*, en un primer estado de último desarrollo larvario que se caracteriza por una reabsorción de los brazos y la aparición en posición lateral interna del embrión. La estimulación de la competencia para la fijación en el período de metamorfosis es conseguida por el establecimiento de una capa diatomeo - bacteriana que recubre las paredes de los tanques de cultivo y que se utiliza también en las placas colectoras utilizadas para la fijación, que son colocadas a la observación del primordio.

El número de larvas viables obtenido en 1995 ha sido de aproximadamente 53×10^6 consiguiéndose muy bajos porcentajes de fijación, presumiblemente debidos a lo inadecuado de la época de puesta (junio - diciembre). Se contabilizaron 24.000 juveniles de 1 mm fijados en las paredes de los bins y sobre los colectores ensayados, de los que el mejor resultado obtenido ha sido del modelo de láminas plásticas con placa diatomeo - bacteriana.

Una característica metamórfica y post - embrionaria es el desproporcionado tamaño de los pedicelarios y pies ambulacrales con respecto al dermoesqueleto del individuo en formación. La finalización del período embrionario o metamórfico da lugar a la formación de un individuo juvenil que presenta ya las características morfológicas y funcionales, excepto la nutrición, de un erizo adulto. Durante los primeros días de vida de estos juveniles de 1 mm de diámetro la boca no es funcional (juveniles endotróficos), comenzando su alimentación macroscópica sobre algas como *Enteromorpha* y *Litophyllum* cuando su morfología y funcionalidad es prácticamente la de un individuo adulto (exotróficos).

Las instalaciones para el mantenimiento en cultivo de los juveniles consisten en una estructura tipo tobogán, en donde son colocadas cajas con diferentes tamices, según la talla de los erizos, y tanques de 1.100 l de capacidad en los que se instalan bandejas de cultivo de 500 micras de malla, para el engorde hasta los 10 mm de diámetro del caparazón. El "tobogán" de mantenimiento de juveniles consta de dos niveles, conformando una longitud de 6 m por la que discurre un caudal de 600 litros/hora, siendo la superficie útil de cultivo de 3 m², en circuito semi - cerrado con un aporte de agua externa de 100 litros/hora y tanque de reserva de 140 l.

Las especies de algas utilizadas en estas fases son fundamentalmente *Litophyllum incrustans*, *Enteromorpha spp*, *Mastocarpus stellata* y Fucales en los primeros estados de permanencia en el tobogán y *Laminaria ochroleuca*, *L. hyperborea*, *Cystoseira baccata*, *Chondrus crispus*, *Fucus vesiculosus* y *Fucus serratus*, en los tanques de engorde.

Las experiencias realizadas demuestran la existencia de "cabezas" y "colas" en las poblaciones estabuladas, lo que se traduce en una notable dispersión de tallas para una misma clase de edad. Cuando la media de talla se aproxima a los 8 mm se procede al traslado de los juveniles al medio natural. El porcentaje de supervivencia en el engorde ha sido aproximadamente del 10 %, obteniéndose un número de juveniles con destino a la siembra mucho menor del esperado.

Es la zona intermareal de costas semiexpuestas la elegida para el segundo método de obtención de juveniles de *Paracentrotus lividus*, donde ocupa cubetas litorales, en las que excava nichos de protección debido a la severa hidrodinamia de su emplazamiento y en las que se alimenta tanto de las algas incrustantes que la tapizan como de las acompañantes (*Corallina officinalis*, *Ulva lactuca*, *Rhodymenia palmata* y otras) y de las que arriban a estas cubetas, por lo que resulta frecuente observar trozos de frondes de laminarias retenidos por los jóvenes erizos sobre su zona dorsal con la doble finalidad de nutrición y protección de la luz debido a su fototropismo negativo. La talla media de captura ha sido de 20 mm y el rendimiento o esfuerzo de captura, de 300 individuos/recolector/hora.

Han sido utilizados varios artefactos para el seguimiento de juveniles de *Paracentrotus lividus* en el medio natural. De una primera jaula de cultivo experimental, sobredimensionada para permitir el acceso a su interior, con 25 m² de superficie útil repartidos en cuatro cámaras, se describen las siguientes características: armazón de entramado metálico de aleación aluminica marina que sirve de soporte para paños de red de 6 mm de malla sintética en todo su contorno, superficie superior y doble fondo, siendo la superficie interna inferior de malla plástica. Las dimensiones de la jaula son de 5 x 5 x 3 metros, fondeándose con cuatro muertos de 800 Kg. y manteniéndose a unos 6 metros del fondo y 4 de la superficie, en la que está balizada por cuatro boyas tipo A-5. En su parte superior dispone de cuatro bocas de alimentación susceptibles de ser ocupadas por tubos semirrígidos con salida en flotación a superficie.

La ubicación de esta jaula, que es fondeada en una batimetría de 14 m, es la Ensenada de Lorbé, en el polígono Sada - A de bateas de mejillón de la Ría de Ares - Betanzos. Esta situación ha causado problemas de limpieza por la abundante epifauna de mejillón fijada en los paños exteriores de red y sobre el propio fondo de malla plástica, siendo considerados los epifitos como parte integrante del cultivo, sin interferir en su proceso. El aporte de alimento al interior de la jaula se restringe a dos únicas especies de macroalgas: *Laminaria ochroleuca* y *Undaria pinnatifida*, que son suministradas periódicamente en cantidad suficiente para su mantenimiento en continuo. La recogida de los erizos en cada cámara de la jaula, para el control de pesos y tallas es realizada mensual o bimensualmente, procediéndose a las operaciones de control durante el

tiempo mínimo indispensable, con material de laboratorio portátil, en instalaciones situadas en las inmediaciones del propio puerto de Lorbé.

Aunque los resultados de supervivencia de las poblaciones controladas en este sistema de cultivo han sido positivos, las dificultades de limpieza exterior y de mantenimiento de la jaula por roturas en los paños del fondo, debido a temporales en la zona, han motivado un cambio de sistema hacia una estructura más sencilla, para la que se ha elegido un fondeo en una zona alejada de polígonos de cultivo de mejillón. Esta nueva estructura consistía en una jaula hexagonal fabricada con tubo de PVC, compartimentada en seis cámaras aisladas por malla plástica de 6 mm. Constaba además de un sistema de compuertas superior individualizado por cámara y cuatro puntos de anclaje: para la sujeción a boya señalizadora en superficie y para su fondeo a muertos.

La zona elegida para su instalación ha sido la Ensenada de Mera en fondos de 13 metros, quedando suspendida a 6 metros de la superficie. La experiencia con este artefacto resultó negativa al no haber superado las pruebas de resistencia a las que fue sometido.

Resultados:

Los primeros resultados de crecimiento determinan una media de 0,047 mm/día en talla y de 0,03 gr/día en peso. Estas cifras indican que la talla comercial de 55 mm sería alcanzada en poco más de tres años de vida.

Las operaciones de cultivo en laboratorio, destinadas a la obtención masiva de juveniles de *Paracentrotus lividus* no han dado buenos resultados, sin ser definitivos, por problemas no resueltos ligados al proceso de fijación y al mantenimiento hasta los 10 mm de talla.

Conclusiones:

Aunque técnicamente viable, no se considera de interés en la actualidad, a nivel económico, el cultivo *indoor* de erizo de mar en Galicia, teniendo además en cuenta la abundancia del recurso en el medio natural. Sin embargo, se estima de gran importancia comercial el establecimiento de sistemas de estabulación en zonas costeras de individuos adultos, al objeto de asegurar el suministro al mercado cuando las condiciones climatológicas sean adversas.

Las acciones de repoblación de zonas sobreexplotadas deberían ser acometidas a partir de poblaciones naturales, trasladando juveniles de zonas internas en las Rías a zonas expuestas, explotadas o no, pero de probada viabilidad para su asentamiento con un alto rendimiento.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Cataluña:

- **1993-94:** Engorde de equinodermos: Erizos de mar (*Paracentrotus lividus*).

COMENTARIOS FINALES.

La siembra de juveniles de *Paracentrotus lividus* en el medio natural está condicionada a una total protección contra sus predadores, en instalaciones tipo "jaulas", dado que en el difícil seguimiento de siembras libres se ha comprobado una alta desaparición y una total mortalidad.

Aunque técnicamente viable, no se considera de interés, a nivel económico, el cultivo *indoor* del erizo de mar en Galicia, teniendo en cuenta además la abundancia del recurso en el medio natural.

Sin embargo, se estima de gran importancia comercial el establecimiento de técnicas de estabulación en zonas costeras de individuos adultos, con el objeto de asegurar el suministro al mercado cuando las condiciones climatológicas sean adversas.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Presentación en el VI Congreso Nacional de Acuicultura del Vídeo científico: Cultivo en laboratorio del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*, Lmk) y perspectivas de repoblación en medio natural.

Informe Técnico de la Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura: Catoira Gómez, J.L., Mosquera Tallón, G. y Martínez Patiño, D. 1995.- Proyecto de cultivo de erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck) en laboratorio y de seguimiento en medio natural. Planes Nacionales de Cultivos Marinos. 1994. JACUMAR.

2. PROYECTO: DESARROLLO DE LÍNEAS DE ESTUDIO SOBRE OREJA DE MAR (*Haliotis tuberculata*) EN GALICIA

AÑO:

Comienzo del plan: 1993
Finalización del plan: 1994

OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio es llegar a la obtención de postlarvas y semilla de *Haliotis tuberculata* para efectuar su posterior siembra y seguimiento en el medio natural; tanto en zonas acotadas en medio abierto sin más intervención que la siembra, como en artefactos diseñados para su engorde en cultivo suspendido con suministro complementario de alimento.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: M^a del Carmen.
Apellidos: García Alonso.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La experiencia de cultivo se desarrolla en la Isla de Ribadeo, en la Isla de Arousa y en la Ría de Pontevedra.

Para el mantenimiento de juveniles en cautividad y determinar los hábitos alimentarios se utilizan las instalaciones de los siguientes centros:

- Centro Investigaciones Mariñas (en Vilaxoán, Ría de Arousa).
- Centro Experimental de Couso (en Ribeira, Ría de Arousa)
- Centro de Cultivos Marinos (en la Ría de Ribadeo).

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

Metodología de los trabajos de evaluación de la biomasa y situación de las poblaciones de oreja de mar en Galicia:

El presente estudio consiste en la realización de muestreos en la franja sublitoral de la costa gallega con el fin de determinar la presencia del molusco gasterópodo *Haliotis tuberculata*. Se seleccionan tres zonas:

Zona A: situada en el norte desde la Ría de Ribadeo (límite territorial entre Galicia y el Principado de Asturias) hasta la Bahía de La Coruña.

Zona B: en torno a la Isla de Arousa, en el centro de las Rías Bajas (provincia de Pontevedra).

Zona C: desde la Ría de Pontevedra hasta la desembocadura del Miño (límite territorial con Portugal).

Cada una de éstas zonas se subdivide en áreas, teniendo en cuenta sobre todo el tipo de sustrato presente, sobre las que se realizan muestreos mediante buceo con escafandra autónoma, en los cuales se verifica el tipo de sustrato presente y se estudia la presencia de la oreja de mar, así como las especies de macroalgas con mayor presencia.

Por lo tanto se realizan muestreos, mediante transectos, en 155 áreas de estudio o estaciones a lo largo de la costa, cosechando en algunos casos muestras que se utilizan para medir los parámetros de toxinas que presentan. Se anotan datos de presencia o ausencia, de la densidad, algún dato sobre tamaños medios (en caso de que se capture algún ejemplar), flora asociada, características de sustrato y otros.

La toma de datos se realiza en una serie de fichas que posteriormente son copiadas a nivel informático, siendo, una vez cargados los datos, sometidos a selección, dejando únicamente los que contengan información sustancial.

Resultados de los trabajos de evaluación de la biomasa y situación de las poblaciones de oreja de mar en Galicia:

Zona A:

Esta zona se subdivide en 74 áreas (desde el área 1 hasta el área 74). De éstas 74 áreas, en unas 40 predomina el sustrato de tipo rocoso, mientras que en el resto predomina el sustrato de tipo arenoso y/o arenoso – fangoso.

La presencia de la oreja de mar se produce en prácticamente la mitad de las áreas seleccionadas para el estudio. En la mayoría de las áreas la oreja de mar se encuentra presente en densidades bajas y son ejemplares de escaso tamaño.

Las especies de macroalgas que predominan en estas zonas son *Fucus spp*, *Chondrus crispus* y *Laminaria hiperborea*.

Zona B:

Esta zona se subdivide en 8 áreas (desde el área 75 hasta el área 82). De éstas, en la mitad predomina el sustrato de tipo rocoso y en el resto el sustrato de tipo arenoso.

La presencia de la oreja de mar se produce en la mayoría de las áreas seleccionadas para el estudio, siendo el tamaño de las orejas de mar más bien grande, aunque las densidades son más bien bajas.

Las especies de macroalgas que predominan en estas zonas son *Fucus serratus*, *Sargasum mitilicum* y *Laminaria hiperborea*.

Zona C:

Esta zona se subdivide en 73 áreas (desde el área 83 hasta el área 155). De éstas 73 áreas, más o menos la mitad predomina el sustrato de tipo rocoso, mientras que en el resto predomina el sustrato de tipo arenoso y/o arenoso – fangoso.

La presencia de la oreja de mar se produce en unas 30 áreas de estudio. Encontrándose ausente en todas las áreas desde la 128 hasta la 155. En la mayoría de las áreas la oreja de mar se encuentra presente en densidades no muy altas y son ejemplares de tamaño medio – grande.

Las especies de macroalgas que predominan en estas zonas son *Fucus spp*, *Chondrus crispus*, *Sargasum mitilicum* y *Laminaria hiperborea*.

Conclusiones de los trabajos de evaluación de la biomasa y situación de las poblaciones de oreja de mar en Galicia:

La especie *Haliotis tuberculata* necesita un sustrato rocoso, preferentemente fragmentado y fisurado, con el fin de encontrar protección frente a depredadores, buenas zonas de pasto por la fijación algal y preferentemente zonas no demasiado expuestas a la acción del mar, pero si con buena renovación del agua.

La especie de macroalga que está más asociada a la oreja de mar es la *Laminaria hyperborea*, aunque también aparece asociada el *Sargasum*, alga que procede del pacífico oriental y que actualmente infesta importantes zonas de la costa gallega.

Metodología del mantenimiento de juveniles en cautividad de cara a determinar los hábitos alimentarios y evolución de la biotoxina P.S.P:

Se pretende analizar el rendimiento que se obtiene con diferentes dietas, basadas en especies algales pertenecientes a los grupos de algas pardas, verdes y rojas, ampliamente distribuidas en las áreas geográficas próximas a las estaciones de estudio.

Se recogen del medio natural un total de 120 ejemplares de *Haliotis tuberculata* en fase juvenil (46,4-60,1 mm de longitud de concha). Durante el periodo de estudio se mantienen separados en grupos de 15 dentro de acuarios de 50 l, con fotoperiodo natural y flujo continuo de agua de mar sin filtrar. La experiencia se desarrolla entre marzo y septiembre de 1995. Las dietas analizadas se basan en macroalgas recogidas en el medio natural en tres estaciones, dos de ellas situadas en la Ría de Arousa y una tercera situada en la Ría de Ribadeo. El suministro de alimento es “*ad libitum*”. Semanalmente se mide la longitud de la concha y el peso de los ejemplares.

Se ensayan ocho dietas monoalgales y una mixta (I) formadas por algas pertenecientes a las siguientes divisiones:

PHAEOPHYTA:

- *Bifurcaria bifurcaria* (Dieta A).
- *Codium tomentosum* (Dieta B).
- *Laminaria sp.* (Dieta C).
- *Himanthalia elongata* (Dieta D).

CHLOROPHYTA:

- *Enteromorpha sp.* (Dieta D)

- *Codium tomentosum* (Dieta E).
- *Ulva sp* (Dieta F)

RHODOPHYTA:

- *Gelidium sp.* (Dieta G).
- *Chondrus crispus* (Dieta H).

El método de bioensayo que se sigue para la determinación de la toxina paralizante (P.S.P.) en moluscos bivalvos, es el que aparece descrito en el Decreto 116/1995 (DOG N° 87 de 8 de mayo de 1995) y seguido por el Centro de Control de Calidade do Medio Mariño dependiente de la Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura. Se analizan de forma sistemática a partir de enero de 1995 individuos adultos recogidos en Quilme (Arousa).

Resultados del mantenimiento de juveniles en cautividad de cara a determinar los hábitos alimentarios y evolución de la biotoxina P.S.P:

En la siguiente tabla se recogen las medias, en peso vivo (g) y longitud (mm), al inicio y final de la experiencia, de cada grupo con diferente dieta. También se indica la Tasa de Crecimiento Mensual (TCM).

Estación	Dieta	Longitud		TCM (%)	Peso	
		Inicial	Final		Inicial	Final
2	A	46,4 \pm 6,6	50,1 \pm 2,9	1,90	16,2 \pm 3,2	15,2 \pm 2,9
2	B	53,8 \pm 4,5	56,4 \pm 3,8	1,15	20,6 \pm 4,7	24,0 \pm 5,1
1	N	53,8 \pm 8,6	59,4 \pm 5,0	1,70	25,7 \pm 12,3	26,9 \pm 7,7
1	D	52,9 \pm 7,9	60,5 \pm 5,0	2,37	25,0 \pm 10,3	31,9 \pm 8,3
2	E	49,2 \pm 3	55,8 \pm 2,2	3,19	15,3 \pm 3,1	23,6 \pm 3,8
1	F	60,1 \pm 7	66,7 \pm 3,1	1,79	33,2 \pm 10,4	41,9 \pm 7,7
3	G	53,3 \pm 3,3	53,3 \pm 3,2	0	21,2 \pm 4,1	20,6 \pm 4,1
3	H	55,8 \pm 3,2	54,9 \pm 4	-0,3	24,7 \pm 4,6	21,8 \pm 4,5
2	I	52,8 \pm 3,2	56,7 \pm 2,5	2,43	19,4 \pm 3,2	26,3 \pm 4,3

La biotoxina PSP aparece en prácticamente todas las muestras analizadas, principalmente en las áreas de las Rías Bajas. En los análisis que de forma sistemática se realizan en especímenes del banco de Quilme, se observa que se superan los niveles legalmente permitidos, con máximos al inicio del verano y del otoño.

Conclusiones del mantenimiento de juveniles en cautividad de cara a determinar los hábitos alimentarios y evolución de la biotoxina P.S.P:

Los grupos de oreja de mar mantenidos con dietas monoalgales formadas por algas verdes son las que presentan mejores resultados de crecimiento.

Se observa que los especímenes mantenidos durante ocho meses con diferentes dietas monoalgales, no presentan en el análisis final, efectuado en marzo de 1996, altos niveles de biotoxina.

Metodología de la reproducción en criadero y cultivo de la semilla obtenida por técnicas de puesta inducida:

Se utilizan individuos adultos, en algunos casos previamente acondicionados y seleccionados según el estado de madurez de las gónadas y el volumen que ocupan en relación con el resto de la masa visceral.

Los métodos de inducción se basan en los tradicionales de someter a los individuos a periodos variables de sequedad, manteniéndolos a continuación en cubetas con agua circulante, que previamente pasa por RUV. Las hembras desovan y se las aísla de forma individual, se recogen los ovocitos en un cristizador y se procede a la fecundación de estos ovocitos.

Las larvas (2-3 ud/ml) se cultivan en agua filtrada a 20 °C, pasada a través de RUV.

Se testan diversos tipos de sustratos colectores para el asentamiento y fijación larvaria (que ocurre a las 72 horas) que es el momento más sensible del proceso post-larvario:

- Plástico envejecido en cultivo monoalgal.
- Piedras de algas bentónicas.
- Colectores tradicionales de PVC, usados para larvas de ostra, envejecidos en agua de mar bruta.
- Piezas de PVC traslúcido, en forma de teja ondulada.

Resultados de la reproducción en criadero y cultivo de la semilla obtenida por técnicas de puesta inducida:

A los dos o tres días del inicio del cultivo larvario se observa la fijación en todos los sustratos ensayados, con preferencia en las placas plásticas mantenidas en los cultivos monoalgales; aunque también en las superficies del fondo de los tanques de cultivo. Es de señalar la importante mortalidad, en la mayoría de los casos superior al 50%, en esta fase de la metamorfosis.

De forma periódica se toman muestras de los individuos fijados con el fin de determinar su evolución:

Días	Talla (μ)
4	0,250
6	0,300
8	0,440
13	0,500
36	0,928
50	1,39
75	1,86
105	2,74
140	3,24

Conclusiones de la reproducción en criadero y cultivo de la semilla obtenida por técnicas de puesta inducida:

Es conveniente incidir en la determinación del colector más adecuado para la fase de metamorfosis con el fin de obtener mejores resultados y disminuir la mortalidad que se produce en éste periodo.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Galicia:

- **1995:** Inducción a la puesta y cultivo de semilla de oreja de mar en medio natural.

COMENTARIOS FINALES.

La cantidad principal de biomasa de *Haliotis tuberculata* se sitúa en las Rías Bajas, apareciendo en las Rías Altas, pero en unas densidades menores que hacen inviable su explotación comercial (exceptuando la Ría de Ares).

La oreja de mar necesita un sustrato rocoso, pero dentro de éste aparece relacionada con aquellas zonas donde éste es fraccionado y fisurado, con el fin de encontrar protección frente a depredadores y buenas zonas de pasto por la fijación algal.

La distribución de la oreja de mar dentro de las rías está matizada por la presencia de dominios de agua dulce. Esto se comprueba en aquellas rías con aportes fluviales, como las de Noia y Arousa, donde hay amplias zonas con dominios salobres, apareciendo paralelamente una distribución de oreja muy externa a la propia ría. No ocurre lo mismo en las rías con escasos aportes fluviales, como la de Pontevedra, donde la distribución de oreja de mar avanza hacia zonas relativamente más internas.

Otro factor importante es el oleaje, disponiéndose preferentemente en zonas no demasiado expuestas a la acción del mar, pero sí con buena renovación del agua, pudiendo decirse que en aquellas zonas donde existe presencia de percebe (*Pollicipes cornucopia*) no aparece *Haliotis*.

3. PROYECTO: ESTUDIO SOBRE LA VIABILIDAD DEL CULTIVO DEL ALGA MARINA *Undaria pinnatifida* EN LAS RÍAS BAJAS GALLEGAS.

AÑO:

Comienzo del plan: 1993

Finalización del plan: 1993

OBJETIVOS:

Poner a punto la metodología necesaria para realizar, de forma autónoma, todas las fases del cultivo de esta especie: Obtención de gametofitos en *free-living*, maduración, siembra de colectores, gametogénesis, obtención de plántulas, aclimatación de las jóvenes plántulas y posterior implante en el mar para su desarrollo.

Desarrollar métodos de cultivo de *Undaria pinnatifida* más viables y rentables que el tradicional "long-line" utilizado en Francia y que pueden generar, por consiguiente, una mayor producción al ser adaptados a las costas de Galicia.

Averiguar cuáles son los periodos idóneos de inicio y fin del cultivo en mar abierto, así como la influencia de los diferentes métodos de recolección, con el fin de optimizar la producción y alcanzar la máxima productividad.

Estimar la calidad, el valor comercial y los costos de la materia prima obtenida en las rías gallegas, para efectuar comparaciones con los datos de otros países europeos.

Calcular la rentabilidad del cultivo de *Undaria pinnatifida* en batea y en polígonos específicos, y compararla con la que actualmente se obtienen en otros países europeos mediante cultivo en "long-line".

Conocer la biología de *Undaria pinnatifida* en las costas gallegas: fenotipos (formas *distans* o forma *typica*), tasas de crecimiento, fenología, grado de epifitismo, tipo de patologías, alteraciones que pueda presentar, etc.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Santiago de Compostela.

Centro: Facultad de Biología (Botánica).

Departamento: Departamento de Biología Vegetal.

Organismo: Univeridad de La Coruña.

Centro: Campus de la Zapateira.

Departamento: Departamento de Biología Animal y Biología Vegetal.

Organismo: Instituto Español de Oceanografía.

Centro: Centro Oceanográfico de Santander..

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura

Centro: Centro Experimental de Vilaxoán.

DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO:

Nombre: José Luis.
Apellidos: Pérez-Cirera López-Nieto.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La obtención de los colectores de semilla se realiza en el Instituto Español Oceanográfico de Santander.

La inseminación de las unidades de cultivo se lleva a cabo en las instalaciones de IGafa en la Isla de Arousa.

Los parques de cultivo se sitúan en dos zonas, una de ellas en la Isla de Arousa en una zona con una profundidad entre 10 y 13 m y fondos arenosos. El segundo parque de cultivo se sitúa en la Ensenada de Bayona, zona con una profundidad entre 9 y 11 m y fondos de arena y cascajo.

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

Metodología:

La elaboración de este estudio tiene dos fases bien diferenciadas, una *fase de laboratorio*, consistente en la obtención de colectores de semilla y una *fase de campo* consistente en diversos ensayos de cultivo de esta semilla en mar.

Fase de laboratorio

Se utilizan dos técnicas para la producción de gametofitos, la primera es la que se desarrolla en Francia y la segunda es la técnica conocida como *free-living*.

Para la producción de gametofitos de *Undaria pinnatifida* en laboratorio, inseminación de los colectores y obtención de plántulas, se sigue la metodología desarrollada en Francia, en el Centro de Nantes dependiente del IFREMER. Con esta técnica, las zoosporas obtenidas de individuos adultos son fijadas sobre el hilo de semilla y desarrolladas hasta gametofito maduro, controlando los parámetros de luz y temperatura en los tanques de cultivo. Por el contrario, la técnica de *free-living* se basa en la obtención de gran cantidad de gametofitos por cultivo intensivo en medio suspendido.

Tratamiento de elementos reproductivos y obtención de esporas

La metodología se basa en la obtención de bases fértiles de esporofitos, las cuales son sometidas a fraccionamiento, limpieza de epífitos, lavados sucesivos con agua de mar estéril y esterilización con agua de Javel. Posteriormente, las porciones fértiles seleccionadas se someten a deshidratación superficial, en oscuridad y durante 12 h, para facilitar la emisión de zoosporas. El extracto definitivo de zoosporas se obtiene por rehidratación de los esporofitos y filtrado final a 20µm.

A lo largo de esta fase de trabajo se realizan 11 extracciones válidas de zoosporas a partir de esporofitos procedentes de poblaciones naturales del puerto de Tragrove (Ría de Arousa) y de plantas francesas cultivadas en las instalaciones del I.E.O. en Santander.

Inicio y mantenimiento del free-living

Para la germinación de las zoosporas se precisa previamente su fijación y posteriormente, para el desarrollo del *free-living*, se hace necesario que éstas permanezcan en suspensión. Contradicción que se resuelve ofreciendo a las zoosporas un sustrato formado por microcristales de fosfato cálcico.

Superada esta fase inicial se provoca la disgregación de los microcristales con una fuerte agitación, de modo que los gametofitos adquieran su modo de vida definitivo en suspensión.

Los cultivos se mantienen en cámara isoterma a 22°C, agitación e iluminación continua de 30 μ E. A los 7 días del inicio del cultivo ya se pueden observar gametofitos de 5 a 7 células.

A lo largo del estudio se inician 23 cultivos de gametofitos diferentes que, posteriormente, se someten a desdoblamientos y repiques en cultivo *free-living*.

Inducción a la gametogénesis

Durante esta fase se pretende obtener un cultivo de gametofitos maduros, sincrónico y compensado en una *sex-ratio* próxima a 1/1 y que, por tanto, permita asegurar la fecundación de las gametas femeninas y la posterior obtención de embriones.

El proceso de gametogénesis tiene lugar en cámaras climatizadas diferentes a las del cultivo en *free-living*, en las que, a lo largo de la semana, se reduce la temperatura de 22 °C hasta 17 °C y la luz de 30 μ E a 10 μ E, introduciéndose también, paulatinamente, un fotoperiodo de día corto (12:12). Es preciso catalogar la *sex-ratio* de cada cultivo con el fin de realizar mezclas pertinentes antes de la siembra.

Para la primera generación se seleccionan los cultivos codificados como P/2, X/1, T/2 y Q/1^a. En la segunda generación se emplean los X/2, V/2 y Q/4, todos ellos con un historial perfectamente controlado.

Siembra de los gametofitos sobre los colectores y fecundación

Los gametofitos que crecen en *free-living* son transferidos a un sustrato llamado hilo de semilla. De la combinación entre los factores textura del hilo y talla de los gametofitos depende la supervivencia de las plántulas. El hilo de semilla se enrolla cuidadosamente sobre un soporte llamado colector.

A partir de esta fase, las técnicas de *free-living* y tradicional coinciden en los pasos a seguir para la obtención de plántulas.

Obtención de plántulas

Una vez sembrados los colectores, se sumergen en tanques de eclosión de 1.000 l donde durante la primera fase se produce la fecundación y obtención de embriones y, finalmente, el desarrollo de plántulas.

Después de la siembra se mantienen los colectores en baja hidrodinamia, día corto y penumbra.

Durante esta fase los gametos masculinos móviles localizan y fecundan a los óvulos, sésiles sobre el gametofito femenino, merced a las feromonas emitidas por éstos.

Pasados los 16 días de cultivo, el crecimiento de estas plántulas se fomenta con las siguientes condiciones:

- Luz 100 μ E, luz día, continua.
- Hidrodinamia: muy fuerte y continua.
- Temperatura: entre 10 y 14°C.
- Nutrientes: nitrógeno y fósforo en relación de peso 14,5/1.

A los 20 días de cultivo se obtienen plántulas de 2-3 mm de longitud y una densidad de cobertura de 19 plántulas por mm de hilo.

Transporte e introducción en el mar

Se realiza en contenedores de polietileno en los que se acondicionan los colectores envueltos en gasa de nylon, en oscuridad y humectación continua, evitando todo roce entre ellos que, indudablemente, provocaría la pérdida de plántulas.

Trabajo en el mar

Se ensayan dos tipos de cultivo en el mar:

Sistema de cuerdas verticales

La unidad estructural es un lastre de 121 de hormigón en el que se incluye una cruceta de hierro que lleva amarrado un cabo de propileno de 1 m de longitud y 12 mm de diámetro; a este cabo se amarra otro, también de propileno, de 10 mm de diámetro en el que se implanta la semilla y que tiene la longitud de la pleamar viva en las diversas zonas. Este cabo es reflotado por una boya de superficie numerada. La zona inseminada, se encuentra completamente vertical a cualquier altura de marea. Estas unidades estructurales, una vez inseminadas, son ubicadas en el mar formando polígonos en los que la distancia entre ellas es de 10 m.

Sistema en long-line

Este es el sistema de cultivo utilizado en la mayoría de países productores de *Undaria pinnatifida*.

Sobre la base de dos lastres se amarra un cabo de polipropileno que tiene una longitud superior en aproximadamente un 30% a la profundidad de la pleamar viva en las diversas zonas, y que es reflotado por una boya en superficie.

Entre dos estructuras como la anterior, y a una profundidad de 1,5 m, se amarra un cabo de 20 m de longitud sobre el que se dispone el hilo de siembra. Para mantener la profundidad del cabo portador, éste es reflotado por medio de boyines colocados a una distancia de 3 m, al mismo tiempo que es ligeramente lastrado en las zonas de amarre de estos boyines.

Inseminación de las unidades de cultivo

Sobre los cabos de polipropileno se enrolla manualmente el hilo de siembra. Para ello, se inserta en el mismo un colector, se ata el comienzo del hilo con la semilla elegida para el principio de la siembra y, seguidamente, el colector se desplaza a lo largo del cabo hasta la zona elegida como final del implante. A medida que se desliza el colector, el hilo de siembra se va enrollando y aplicando helicoidalmente sobre el cabo portador.

Una vez inseminados, los cabos son introducidos cuidadosamente en barriles estancos llenos de agua de mar y se transportan a los polígonos de cultivo en el menor tiempo posible.

Una vez en la zona de cultivo, y según el tipo de sistema de cultivo se procede del siguiente modo:

- Cabos verticales:

El extremo inferior de los cabos inseminados es amarrado a los lastres, el superior a las boyas.

- *Long – line*:

Se montan los cabos verticales y el tramo horizontal con sus lastres y boyines y, una vez ensamblados, todo el conjunto es arriado al mar y posteriormente tensado desde la embarcación.

Casi todas las experiencias suplementarias se desarrollan en el cultivo situado en la Isla de Arousa. Bayona se reserva para la obtención de datos sobre la marcha del cultivo en otras condiciones oceanográficas, con el fin de poder comparar los datos con los obtenidos en la Isla de Arousa.

Resultados:

*Factores que influyen en la viabilidad y crecimiento de *Undaria pinnatifida* en cultivo*

A lo largo del experimento de cultivo de *Undaria pinnatifida* se ensayan varios tipos de colectores, como son los colectores utilizados en Francia y desarrollados en IFREMER, los colectores cilíndricos, los colectores tipo “Marco coreano” y los colectores de planta cilíndrica formado por un entramado metálico plastificado. De todos los sistemas de colectores que se ensayan, se considera que el más idóneo es el metálico recubierto de plástico porque sintetiza las ventajas del resto de los colectores utilizados (forma cilíndrica que permite el paso del cabo portados por su interior, facilitando el encordado, hilos separados que permiten la introducción del conjunto en el mar hasta un tamaño de plántula idóneo; posibilidad de nebulizar la semilla por la totalidad del hilo de siembra; robustez del colector y posibilidad de reutilización), y como sistema válido el colector tipo francés con hilos separados entre ellos.

Factores biológicos y ambientales

El tamaño de la plántula de por sí, no tiene importancia en el desarrollo del cultivo. Sin embargo, este tamaño puede ser en muchos casos crítico para la viabilidad del cultivo en función de factores ambientales, en particular la competencia con especies pioneras y oportunistas.

La influencia del *fouling* en el cultivo tiene una gran importancia en las fases iniciales de éste, convirtiéndose en un factor decisivo, sobre todo en el caso de que el tamaño de plántula inicial de *Undaria* sea reducido.

El desarrollo de algunas especies del *fouling* en ocasiones es tan acelerado que se establece una competencia por nutrientes y sobre todo por la luz, que produce una ralentización del crecimiento de *Undaria*, y en casos extremos, la muerte de ésta.

En Arousa la influencia de estos organismos es tal que sólo se obtiene, por muerte del implante, una producción máxima por tramo (50 cm de cuerda) de unos 0,8 Kg a los 4 meses de iniciada la inmersión, frente a los cerca de 3 Kg obtenidos en Bayona tras el mismo periodo, localidad mucho menos afectada por el fenómeno del *fouling* durante el crítico primer mes de la inmersión.

Uno de los objetivos propuestos es estudiar la conveniencia de aclimatar en la zona de cultivo, durante un tiempo, los colectores con el hilo de siembra antes de proceder al encordado de los cabos portadores. Analizando los resultados que se han obtenido en cuanto a la biomasa por tramos, número de individuos y relaciones de tallas, se aprecia que ambas cuerdas son muy similares y que incluso la que permanece el primer mes en aclimatación alcanza unos valores en todos los aspectos muy superiores. Aparte de haber un mayor número de individuos en la cuerda aclimatada, la distribución de los mismos es comercialmente más óptima, puesto que se observa un mayor porcentaje de individuos situados en tallas medias.

En cuanto a la época de inicio del cultivo, se establece un periodo comprendido entre octubre y febrero en el que las condiciones de temperatura y luz son favorables para la introducción del cultivo en el mar. De las cuatro generaciones cultivadas para el ensayo de optimización en el tiempo (octubre, diciembre, febrero y junio), ensayo realizado únicamente en Arousa, la segunda (diciembre) da los resultados más positivos. El escaso rendimiento de la primera (octubre) es debida a los fenómenos de *fouling*; el de la tercera a un sinergismo entre altas temperaturas y fotoperiodo, sinergismo que acaba con la producción a partir del cuarto mes y que se hace más evidente en la cuarta generación en la que la producción con valor comercial es nula por clorosis muy prematura en los talos. La época de inicio del cultivo tiene una influencia notoria en la tasa de crecimiento y en el tamaño de los ejemplares maduros. Se obtienen las biomásas máximas en cada periodo más tardíamente cuánto más temprana haya sido su introducción en el mar. En el caso representado, se obtiene la mayor biomasa de la primera generación a los 5,5 meses de cultivo, a los 4,5 en la segunda y a los 3,5 en la tercera.

La dinámica de las poblaciones del cultivo en cuerdas verticales es similar en Arousa y Bayona. A los tres meses del implante, las clases de talla comprendidas entre 1 y 3 triplican al resto de las tallas del conjunto del implante. A medida que transcurren los meses el cultivo evoluciona hacia una dispersión en el tamaño de los individuos, por crecimiento de los talos afianzados en el implante. La producción obtenida en Bayona supera a la de Arousa durante el periodo de cultivo, si bien los valores máximos de producción se obtienen en profundidades entre 1,5 y 2 m tanto en Arousa como en Bayona.

*Influencia del diseño de los sistemas de cultivo en el desarrollo de *Undaria pinnatifida**

La instalación en Arousa de un cultivo de conducción vertical y horizontal, en el mismo periodo de tiempo, permiten obtener datos significativos de la distribución de la población en ambos sistemas de cultivo y comparación, de cara a una optimización, de la producción obtenida en cada uno de ellos.

Cuerdas verticales

En la evolución a lo largo del tiempo (2,5 – 5,5 meses de inmersión) se detecta la transformación paulatina de las clases de valores pequeñas hacia las clases de valores mayores. A los tres meses de la introducción en el mar, la mitad de la población se encuentra comprendida entre 20 y 40 cm, y a los cuatro meses y medio ésta alcanza tallas comprendidas entre 40 y 100 cm. Durante el mes siguiente se produce un estancamiento de las tallas, incluso un descenso, por pérdida de biomasa en los ápices.

Se parte de un número muy elevado de individuos de pequeño tamaño y a medida que avanza el estudio se tiende a que los tamaños se homogeneicen ya que los ejemplares de gran tamaño se fraccionan apicalmente facilitando la entrada de luz a los individuos pequeños.

En lo referente a las biomásas, hasta los tres meses y medio, la producción es baja, sin embargo, a partir de los cuatro meses, se produce un incremento de la biomasa que llega al máximo a los cinco meses y medio. El máximo aprovechamiento se obtiene a los cuatro meses y medio, ya que el incremento de peso del mes siguiente es debido a la formación de los esporófilos, que producen un aumento considerable de la biomasa total sin producirse un incremento de la lámina. Los máximos de producción se estabilizan entre metro y medio y dos metros y medio. La distribución de las tallas en profundidad en el momento óptimo de la recolección (4,5 meses) es bastante heterogénea, muestra clases mayores y con más amplitud entre dos metros y medio y cuatro, descendiendo las tallas en el resto de los tramos del cultivo.

Long-line

El estudio de las tallas muestra un proceso de crecimiento en el tiempo y dinámica poblacional similar al de las cuerdas verticales, pero con una homogeneidad de tallas muy superior debido a que no existe un gradiente vertical que condiciones diferencias entre tallas, estando las oscilaciones correlacionadas únicamente con el tiempo que lleva creciendo el cultivo. A diferencia de los que sucede en las cuerdas verticales, a partir de los cuatro meses y medio se produce un descenso muy marcado de las frecuencias de tallas grandes, consecuencia también de la mayor sincronía del cultivo en long-line. El máximo de producción comercial se obtiene a los cuatro meses y medio de inmersión.

*Producción y analítica de *Undaria pinnatifida**

El tiempo de cultivo en el mar hasta el momento de la recolección es variable en función de la época en que se inicie la inmersión, siendo más tardía cuanto más temprano se introduzca el cultivo en el mar. Así, la primera generación se introduce en el mar a finales de octubre siendo el momento óptimo de su recolección pasados cinco meses y medio, la segunda se introduce a principios de diciembre y se recolecta a los 4,5 meses y la tercera generación se introduce a principios de febrero siendo el momento óptimo de la recolección a los 3,5 meses.

En la siguiente tabla se observan las producciones medias obtenidas en los diversos experimentos:

Localidad	Arousa	Bayona	
Tipo de conducción	Vertical	Long-Line	Vertical
Primera generación	0,7 Kg/m	-	2,2 Kg/m
Segunda generación	3,6 Kg/m	6,5 Kg/m	5,8 Kg/m

Las grandes fluctuaciones en la producción se deben sobre todo a fallos en las primeras fases del cultivo en el mar, consecuencia de los fenómenos de competencia interespecífica de las especies del *fouling*.

Undaria pinnatifida presenta unas cualidades que hacen de ella un producto de elevada calidad como alimento debido al elevado contenido de proteínas y su alta calidad en relación con otras algas pardas, la tasa de digestibilidad es muy elevada (85-90%), existe una elevada presencia de todos los aminoácidos esenciales, el contenido en lípidos y glúcidos asimilables reducido, existe un alto contenido en las vitaminas A, D, E, B₁, B₂, B₅ y B₁₂, en minerales y en oligoelementos.

Conclusiones:

Factores que influyen en la viabilidad y crecimiento de Undaria pinnatifida en cultivo

De todos los sistemas de colectores ensayados, se considera que el más idóneo es el metálico recubierto de plástico y se considera como un sistema válido el colector francés con hilos separados entre ellos. El mejor hilo de siembra a utilizar es el hilo de poliamida de 2 mm de diámetro formado por tres hebras. Es aconsejable utilizar como cabo portador aquellos cabos que tengan una tendencia a hundirse y que presenten una alta superficie de contacto.

Factores biológicos y ambientales

Es muy importante realizar experiencias que permitan, de alguna manera, prever, conocer y valorar la intensidad de reclutamiento de las especies de *fouling* en el momento en que se quiere introducir el cultivo en el mar, so pena de obtener importantes mermas en la producción. Una de las maneras de evitar en gran medida los efectos negativos del *fouling* es someter a los colectores de semilla a procesos de aclimatación.

Para el desarrollo del alga marina *Undaria pinnatifida* se necesita un periodo de aclimatación de al menos un mes. La aclimatación es ventajosa por dos causas:

- Permite introducir en el mar plántulas de tallas muy pequeñas y que, gracias a permanecer en el colector donde la densidad de plantas es muy superior a la que se presentaría en el encordado, no son afectadas por los fenómenos de competencia de especies oportunistas, lo que conlleva una disminución de riesgos y un abaratamiento de la producción.
- Disminución de posibles contaminaciones o patologías de la semilla en el laboratorio al acortar su permanencia en el mismo. Disminución del peligro de supervivencia en cuanto a temporales, accidentes, robos, etc.

El cultivo de *Undaria pinnatifida* en Galicia debe comenzar preferiblemente en una época temprana (octubre-noviembre) sin embargo, hay que tomar medidas para que el implante inicial no sufra daños por el ataque de especies competidoras de alto reclutamiento en esta época del año. Si el cultivo es tardío, la producción y el valor comercial de los individuos es menor, sin embargo, puede ser aconsejable ya que se paliar los fenómenos de competencia interespecífica y se acorta el tiempo de cultivo por el aumento de la tasa de crecimiento de *Undaria pinnatifida*.

La zona de cultivo tiene una gran importancia en la productividad del cultivo de *Undaria pinnatifida*. Con una misma generación, en la misma época de introducción y tras los mismos periodos de tiempo, en Bayona se obtiene una mayor producción que en Arousa debido al tamaño de los ejemplares y no a un mayor número de ellos.

Influencia del diseño de los sistemas de cultivo en el desarrollo de Undaria pinnatifida

Se puede afirmar que en el momento de la recogida de la segunda generación (cuatro meses y medio) para la conducción de cuerdas horizontales, se obtiene una producción muy constante en todos los tramos, que casi duplica la media de producción de las cuerdas verticales y, además, la distribución de tallas es muy homogénea y con mayor número de individuos en comparación con las cuerdas verticales.

El sistema de conducción en cuerdas verticales presenta, frente al sistema en long-line, una mayor dificultad de manejo a la hora del implante de los cabos y a la hora de la recogida de la producción, teniendo sólo como posibles ventajas el poder usar zonas no aptas para la confección de long-line, permitir la cómoda navegación entre las boyas y diversificar riesgos de pérdidas de cuerdas por imponderables.

Producción y analítica de Undaria pinnatifida

La biomasa y sobre todo la calidad de la producción obtenida es mayor cuanto más tiempo se tarda en alcanzar el momento de su recolección.

En Galicia se pueden llegar a obtener unas producciones análogas, sino superiores, a las de los actuales países productores, ya que la producción podría, sin duda, verse sensiblemente mejorada si se realizan nuevas experiencias de optimización del cultivo en base a las conclusiones de muy diversa índole obtenidas en el presente estudio: procesos de aclimatación, prevención del *fouling*, introducciones tempranas, cultivo en localidades mas idóneas, etc.

Undaria pinnatifida es un alimento rico en proteínas, vitaminas y sales minerales, ligero en cuanto a su contenido en glúcidos asimilables y lípidos y equilibrado en referencia a su contenido en fibras.

COMENTARIOS FINALES.

El cultivo de *Undaria pinnatifida* en las costas gallegas es viable, si bien, tanto en la fase de laboratorio como en la fase de campo, hay un sinnúmero de variables que tienen mucha importancia en la marcha del cultivo.

La *Undaria pinnatifida* es una especie que gusta de un grado de hidrodinamia media y valores de iluminación, fotoperiodo y temperatura relativamente bajos.

Un inconveniente en el cultivo de *Undaria pinnatifida* es la negativa influencia que puede llegar a tener la presencia de bateas de mejillón en las inmediaciones del cultivo. Los inconvenientes son debidos a que en estas zonas hay un mayor reclutamiento de las especies del *fouling* y un mayor grado de sedimentación que puede exacerbar los ataques por copépodos u otros parasitismos.

4. PROYECTO: PUESTA A PUNTO DE UN SISTEMA INDUSTRIAL DE PREENGORDE DE SEMILLA DE ALMEJA FINA EN ZONAS INTERMAREALES DE LA RÍA

AÑO:

Comienzo del plan: 1995

Finalización del plan: 1996

OBJETIVOS:

El objetivo de este proyecto de investigación consiste en conseguir y optimizar un sistema de preengorde a nivel industrial, de bajo coste, al alcance de las Organizaciones (Cofradías, Agrupaciones, OPPs), para conseguir que en un periodo comprendido entre 4-6 meses (dependiendo de la época del año) la semilla de 5 mm pueda alcanzar el tamaño adecuado (15-20 mm) para proceder a su siembra con altos niveles de supervivencia.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura.

Centro: Centro de Investigacions Marinas de Corón.

Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Antonio.

Apellidos: Cerviño Eiroa.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El preengorde de almeja fina se realiza en la zona intermareal de dos playas de la Ría de Arousa, la zona de estudio se sitúa en la playa de Borreiros perteneciente a la Cofradía de Pescadores de Vilaxoán, y la zona para réplicas en la playa de O Castelete, perteneciente a la Cofradía de Vilanova de Arousa, ambas situadas en el margen sur de la Ría de Arousa.

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

Metodología:

El nivel mareal elegido es de 0,5 m sobre la bajamar escorada, colocándose bolsas para comparación a un nivel de 1 m. A lo largo del trabajo se realiza un seguimiento de las condiciones oceanográficas en las zonas de estudio (temperatura y salinidad).

El material de cultivo consiste en bolsas de plástico, de distintos diámetros de malla, desde 1 hasta 18 mm, en las que queda estabulada la semilla de almeja fina, que se enganchan a mesas de 0,5 m de altura, mediante gomas con ganchos o cinchas.

El trabajo se realiza con 30 partidas de almeja fina (con pesos individuales iniciales que varían entre 3 y 6,670 mg) procedentes del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo, de Ostreira S.A., SATMAN y almeja de cultivo de Vilaxoán.

Con las 30 partidas se realizan 275 experiencias de cultivo, realizándose pruebas de densidad (entre 0,04 y 6 Kg/m²), nivel mareal y zona de cultivo.

Los muestreos se realizan mensualmente, obteniéndose el peso individual medio P_{hi} , la talla media (L) y la mortalidad (relación entre las conchas sin viandas y el número de individuos vivos de la muestra). Con los muestreos se calculan las tasas de crecimiento en peso (G30) y en talla (K30) y en porcentaje (%):

Tasa de crecimiento en peso \Rightarrow

$$G30 = 30.100 [\text{Ln} (P_{hf}) - \text{Ln} (P_{hi})] / n^{\circ} \text{ días}$$

Tasa de crecimiento en talla \Rightarrow

$$K30 = 30.100 [\text{Ln} (P_{hf}) - \text{Ln} (P_{hi})] / n^{\circ} \text{ días} [\text{Ln} (P_{hf}) + \text{Ln} (P_{hi})]$$

Tasa de crecimiento en porcentaje \Rightarrow

$$\% = [P_{hf} / P_{hi}] / n^{\circ} \text{ días}$$

Siendo P_{hf} el peso húmedo final y P_{hi} el peso húmedo inicial.

En base a las tasas de crecimiento obtenidas en las bolsas que presenten porcentajes de mortalidad inferiores al 10%, se calculan ecuaciones mensuales de regresión ($P_{hi} - G30$) y, a partir de éstas, se calculan los crecimientos estacionales por rangos de peso.

En el año 1997 se realizan cuatro pruebas de crecimiento y mortalidad suponiendo un total de 16 muestreos de entre 2 y 3 días de duración. Los datos globales de los muestreos son los siguientes:

Nº de pochones muestreados: 173.

Pesos individuales iniciales: entre 7,1 y 770,9 mg.

Densidades de cultivo: entre 0,04 y 4 Kg/m².

Se somete a la semilla de almeja fina a situaciones de estrés tales como, periodos de desecación prolongada, bajada de oxígeno, altas temperaturas y falta de alimento.

Resultados:

La tasa de crecimiento varía entre amplios márgenes dependiendo de diversos factores como la talla, la estación de cultivo, la densidad de estabulación, la zona y el primer mes de cultivo.

En primavera, una almeja con un peso inicial de 5 mg multiplica por 2,56 su peso en un mes, alcanzando un peso final de 12,8 mg, lo que se corresponde con una G30 de 94,09, mientras que una almeja con un peso inicial de 500 mg sólo multiplicaría su peso por 1,48.

Las diferentes condiciones ambientales de las distintas estaciones (temperatura, salinidad, cantidad de alimento en el agua) también provocan diferencias en el crecimiento, que van desde el bajo crecimiento de enero hasta alcanzar un crecimiento máximo en junio, donde una almeja de peso inicial 5 mg multiplica su peso inicial por 4,8, alcanzando un peso final de 24 mg, lo que se corresponde con una G30 de 157,58; a partir de este mes las tasas de crecimiento siguen siendo altas pero con una disminución progresiva.

En 1997 las temperaturas son superiores a las de 1996, lo que se refleja en las tasas de crecimiento estacionales obtenidas, superiores en 1997 en invierno, primavera y verano, siendo las diferencias más grandes cuanto más pequeños son los individuos.

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes de mortalidad mensuales medios y máximos de cada estación anual, expresados en %:

	Porcentaje medio	Porcentaje máximo
Invierno 1996	1,79	11,36
Primavera 1996	1,23	8,30
Verano 1996	2,62	6,25
Otoño 1996	3,08	8,71
Invierno 1997	7,90	24,42

Si el preengorde comienza en invierno (febrero), con una semilla de 5 mm, tarda 6 meses en alcanzar los 12,5 mm, con un porcentaje de mortalidad, a lo largo de todo el periodo es de 18,89%.

Si el preengorde comienza en primavera (mayo), tarda 5 meses en alcanzar los 12,5 mm, con un porcentaje de mortalidad, a lo largo de todo el periodo es de 9,95%.

Si el preengorde comienza en verano (agosto), tarda 8 meses en alcanzar los 12,5 mm, con un porcentaje de mortalidad, a lo largo de todo el periodo es de 22,96%.

Si el preengorde comienza en otoño (noviembre), con una semilla de 5 mm, tarda 8 meses en alcanzar los 12,5 mm, con un porcentaje de mortalidad, a lo largo de todo el periodo es de 22,83%.

Los porcentajes de mortalidad del último mes de primavera y de los meses de verano, son superiores en el año 1997, a causa de las elevadas temperaturas a que se ven sometidas los individuos durante los desdobles.

El cultivo admite densidades superiores en las épocas de menor crecimiento (otoño e invierno), mientras que en los meses de mayores crecimientos (primavera y verano) la densidad inicial puede llegar a cuadruplicarse en un mes y constituir una carga excesiva. En función de la estación y de la talla inicial de la semilla se elabora una tabla de densidades adecuadas para el preengorde de almeja fina:

	Otoño - Invierno	Primavera - Verano
Rangos de talla	Densidades (Kg/m²)	Densidades (Kg/m²)
3 mm – 5 mm	0,5	0,25
5 mm – 10 mm	1	0,5
+ 10 mm	1,5	1

Sobrepasar estas densidades produce dos efectos, menor crecimiento y mayores porcentajes de mortalidad.

Debido al cambio brusco de las condiciones de cultivo del hatchery al medio natural, las tasas de crecimiento de la semilla, el primer mes que permanece en el agua, son menores que las esperadas.

El nivel mareal no afecta apenas al crecimiento en las pruebas realizadas, pero sí al porcentaje de mortalidad, de tal forma que en julio, las almejas de un mismo lote colocadas a 1 m sobre la bajamar escorada, presentan un porcentaje de mortalidad del 13% mientras que el de las colocadas a 0,5 son del 5%.

Cuando se somete a la semilla de almeja fina a situaciones de estrés se llega a los siguientes resultados:

- Los periodos de estabulación en seco superiores a 24 horas disparan los porcentajes de mortalidad.
- La temperatura y el nivel de humedad son dos factores limitantes en los periodos de estabulación en seco.

Conclusiones:

La almeja fina con una talla inicial de 5 mm colocada a una densidad adecuada, tarda en alcanzar los 12,5 mm, talla adecuada para su siembra en arena, entre 5 y 8 meses dependiendo de la estación de inicio del cultivo.

Los individuos de tallas más pequeñas presentan unas tasas de crecimiento más elevadas que los individuos de mayor tamaño.

Dentro de los parámetros de cultivo, la densidad es el que más influencia tiene en el crecimiento y en la mortalidad, de tal forma que, a una densidad excesiva, el crecimiento puede llegar a detenerse y a producir altos porcentajes de mortalidad. A su vez, la densidad adecuada para el cultivo depende de dos factores: la estación anual y la talla inicial de la semilla.

COMENTARIOS FINALES.

El preengorde de almeja fina en cultivo sobreelevado permite que, a partir de semilla de almeja fina de pequeño tamaño, entre 3 y 4 mm, se obtengan almejas de tamaño adecuado para la siembra en arena, entre 12 y 15 mm, en un periodo corto de tiempo y con bajos porcentajes de mortalidad, sin que el material empleado en este sistema de cultivo ni el coste inicial de semilla de pequeño tamaño encarezca excesivamente el producto final.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Presentación del póster “Preengorde de almeja fina (*Ruditapes decussata*) en sistemas sobreelevados” en el VI Congreso Nacional de Acuicultura.

Ponencia titulada “Preengorde de almeja fina (*Ruditapes decussata*) en sistemas sobreelevados” presentada en la I Xornadas Técnicas para o Desenvolvemento Productivo do Marisqueo a Pé.

5. PROYECTO: DESARROLLO DE UN SISTEMA ECONÓMICO DE ELIMINACIÓN MECÁNICA DE ALGAS LIBRES

AÑO:

Comienzo del plan: 1995
Finalización del plan: 1995

OBJETIVOS:

- Reducir costos de explotación.
- Aumentar la producción de bivalvos al favorecer las condiciones ecofisiológicas del medio, especialmente durante los periodos de oscuridad y de altas temperaturas.
- Buscar un sistema económico y rápido que permita eliminar los acúmulos de biomasa algal libres (flotantes).

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura.
Centro: Centro de Investigaciones Marinas de Corón.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Ricardo.
Apellidos: Arnáiz Ibarrondo.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Se proponen las Concesiones de la Cofradía de Mariscadores de Vilanova de Arousa para la realización de este proyecto, ya que es una zona que sufre especialmente el fenómeno de los acúmulos algales en verano y otoño sobre sus arenales.

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

Metodología; Ensayos de extracción y valoración económica:

Se realizan pruebas de limpieza de algas en las concesiones administrativas de las Cofradías de Pescadores de Vilaxoán y Vilanova mediante los sistemas tradicionales utilizados hasta ahora y otros alternativos mediante arrastre con redes.

Las tareas de limpieza se realizan habitualmente en bajamar, mediante rastrillos. Se realizan montones con las algas recogidas, que una vez drenadas parcialmente del agua que retienen son cargadas en un remolque de tractor y vertidas en cotas superiores a la de la máxima pleamar.

Con el fin de mejorar los rendimientos de extracción de algas de los métodos tradicionales (rastrillos a pie), se realizan pruebas mediante arrastre manual de artes de red, utilizando:

- Trasmallo:

Arte fija de enmalle que consta de tres paños paralelos entre sí, utilizado para enmallar peces y crustáceos.

- Rapetiña:

Arte de arrastre de pequeñas dimensiones usada habitualmente para la captura de cefalópodos (*Sepia officinalis*) en zonas de poco calado (1 ó 2 metros).

Resultados; Ensayos de extracción y valoración económica:

Rastrillos a pie (Vilaxoán y Vilanova)

En la siguiente tabla se ven los resultados de la limpieza de algas en Vilaxoán y Vilanova:

	Rendimiento medio	Rendimiento trabajadora		Gastos de limpieza	
		Ptas./día	Ptas./hora	Ptas. / día	Ptas./tonelada
Vilaxoán	405 Kg/per. hora	5.185	1.728	141.600	4.662
Vilanova	100 Kg/per. hora	2.963	988	642.600	10.710

El rendimiento medio es más elevado cuanto mayor es el número de algas que hay que limpiar.

En Vilaxoán se estima un gasto de 141.600 ptas por día de limpieza medio en jornales y tractores (25 personas x 3 horas x 1.725 ptas/hora +12.000 ptas/tractor).

En Vilanova se estima un gasto de 642.600 ptas por día de limpieza medio en jornales y tractores (200 personas x 3 horas x 998 ptas/hora + 5 tractores x10.000 ptas/tractor).

La diferencia de rendimiento entre una zona y otra, es debido a que en Vilaxoán los arenales están prácticamente limpios de piedras y rocas mientras que en Vilanova (Castelete) aquellos presentan una elevada densidad de piedras, de 1 a 20 Kg de peso, que entorpecen sobremanera las tareas de rastrillado y de circulación de tractores.

Trasmallo a pie (Vilaxoán)

Se realizan varios lances con un trasmallo de dos paños unidos (30 m + 30 m). A este paño de red con una amplitud resultante de 60 metros de barrido se le adaptan unos cabos de 25 metros para su calado y arrastre posterior hacia la playa.

	Rendimiento medio	Rendimiento trabajadora		Gastos de limpieza	
		Ptas/día	Ptas/hora	Ptas / día	Ptas/tonelada
Vilaxoán	<16 Kg/per. hora	5.184	1.728	141.600	118.000

25 personas durante 3 horas de trabajo extraen 1,2 m³ de algas, costando la jornada de limpieza de algas 141.600 ptas (5 equipos de 5 personas x 3 horas x 1.728 ptas/hora + 12.000 ptas/tractor).

Rapetiña a pie (Vilaxoán)

Se realizan varias pruebas en Corón y Borreiros con una rapetiña sin copo construida y utilizada por las mariscadoras de la Agrupación de Mariscadoras de Moaña para limpiar de algas sus concesiones.

Se observa un rendimiento de 28 Kg/persona, rendimiento superior al del trasmallo, aún cuando su longitud y por tanto su área de barrida durante el lance es menor.

Rapetiña lastrada a pie (Vilaxoán)

En este caso, el costo de las algas extraídas supone 20.571 ptas/T (20,6 ptas/Kg) ó si se hubiera utilizado un tractor para tirar del arte (2 personas), 32.038 ptas/Tm.

Conclusiones; Ensayos de extracción y valoración económica:

La mecanización de las operaciones aplicando arrastre por tractor o haladores mecánicos se evalúa como poco viable dado que el problema radica principalmente en el sistema recolector y no en la recogida del mismo.

Se considera que el tiempo de trabajo (tres horas por marea) y los días favorables para estas tareas (bajamares con cotas inferiores a un metro) son insuficientes para permitir extracciones y limpiezas efectivas y rentables.

Metodología; Sistema de aspiración por bombeo:

En vista de las conclusiones de los ensayos de extracción, se opta por ensayar un sistema mecanizado que permita trabajar todos los días y a jornada completa. Se piensa en una bomba aspirante de gran caudal, similar a las utilizadas por las embarcaciones de dragados que aspiran lodo, arena y piedras. Se realizan varias pruebas con diseños y dimensiones diferentes.

Prueba preliminar

Se emplea una embarcación de 24 metros de eslora con una bomba aspirante de 400 toneladas de agua por hora, sobre un fondo con grandes acúmulos algales.

Primer diseño. Aspiración directa

Con el fin de ampliar la anchura de la franja de sustrato a limpiar, se diseñan y construyen dos "bocas" de chapa de acero para el tubo aspirante de forma similar y dimensiones diferentes, una con un ancho de 2 metros y la otra de 1,3 metros. En ambos casos se les acopla un arnés dotado de ruedas de automóvil para no afectar al sustrato y que permita su regulación en altura de modo que la distancia desde el fondo a la boca pueda ser regulada a voluntad. Así mismo, las bocas que presentan una apertura de 10 cm son dotadas de una pestaña deslizante regulable para variar el paso y, por tanto, la velocidad de entrada y arrastre del agua en aspiración sobre el fondo.

Se emplea una embarcación de 16 m de eslora, 5 m de manga y 0,8 m de calado dotada de una bomba con una capacidad de trasiego de 150 m³/hora, rendimiento que equivale a 2.500 litros/minuto a través de una salida de diámetro interior de 150 mm.

Se realizan varias pruebas barriendo zonas de baja y alta densidad algal y variando la altura de la boca del artefacto al sustrato así como la apertura de la misma.

Segundo diseño. Concentración previa y aspiración

Se realiza un colector o rastro con perfil en L y varilla de acero galvanizado a modo de embudo, montado sobre ruedas, con una altura de barrido de 2,5 metros, una altura de 0,5 metros y de 3,5 metros de profundidad. En el fondo del embudo se coloca la toma de aspiración. Con el fin de evitar colmatamiento, se evitan al máximo posible los refuerzos transversales de las mismas, lugar donde se acumulan las algas formando paquetes difíciles de eliminar. Se procura separar las varillas en la boca del arte y en la boca del copo en torno a 4 cm en las partes más amplias y un mínimo de 2 cm en el fondo.

Resultados; Sistema de aspiración por bombeo:

Prueba preliminar

Se constata, mediante inmersión, que en el fondo queda limpia de algas una franja ligeramente más ancha que el diámetro del tubo de admisión (300 mm) de la bomba y que el sustrato arenoso subyacente no es absorbido ni con él la posible fauna residente.

Se evidencia que si bien las algas en marea baja forman una “manta” de diferente espesor (1 ó 2 cm) según las zonas y su fase vegetativa, en marea alta los filamentos de las mismas se yerguen desde el fondo alcanzando en algunos casos hasta 40 cm de altura.

Primer diseño. Aspiración directa

Se constata un bajo rendimiento en zonas de alta densidad y muy bajo o prácticamente nulo en las de baja densidad, aún usando la misma relación de sección aspiración/impulsión (2,2:1).

Segundo diseño. Concentración previa y aspiración

Las algas existentes en el fondo son recolectadas por el arte en su práctica totalidad, las boquillas de agua a presión funcionan según lo esperado. Únicamente la parte inferior del arte no se comporta de forma conveniente ya que la red acumula gran cantidad de fango y algas (aproximadamente 200 Kg) imposibles de eliminar ni siquiera con el motor de avance y a media agua.

El rendimiento del arte depende de la densidad de algas existentes sobre el sustrato en cada zona y/o época del año. Se realizan dos pruebas sobre sustrato con densidades medias de algas, alcanzando un rendimiento entre 6 y 10 m³ (aproximadamente 6-10 Tm) de algas drenadas por hora.

Los costes de extracción y limpieza de algas se sitúan entre las 0,7 y las 0,9 ptas/Kg, valor muy inferior al estimado por otros métodos de extracción.

Conclusiones; Sistema de aspiración por bombeo:

Prueba preliminar

Los resultados de esta prueba preliminar se consideran satisfactorios

Primer diseño. Aspiración directa

Los resultados de esta prueba no se consideran satisfactorios, hay que buscar nuevos métodos.

Segundo diseño. Concentración previa y aspiración

Los resultados son altamente satisfactorios y teniendo en cuenta el rendimiento en peso de algas obtenidas se dan por conseguidos los objetivos marcados en el Protocolo del proyecto en cuanto a extracción de algas.

Metodología; Comprobación *in situ* del efecto de los acúmulos algales:

Efecto del tapiz algal sobre los bivalvos

Bajo los tapices de *Enteromorpha sp* que recubren en manchas los arenales, el sustrato presenta una total reducción y un fuerte olor a SH₂. Así mismo, es allí donde los bivalvos se encuentran desenterrados, debilitados o muertos y en putrefacción.

Con el fin de comprobar este efecto se entierran en la arena cuatro cajas de malla con almeja fina, *Tapes decussata*, de diferentes tallas (15-35 mm de longitud, eje entero-posterior).

Tensión de oxígeno

La tensión de oxígeno en zonas con abundantes algas oscila fuertemente del día a la noche, dependiendo de la biomasa algal existente.

Resultados; Comprobación *in situ* del efecto de los acúmulos algales:

Efecto del tapiz algal sobre los bivalvos

Meses después de enterrar las cuatro cajas de almejas finas, se constata que tres de ellas están cubiertas por las algas en bajamar y una no. En ésta última la almeja se encuentra perfectamente enterrada y prácticamente sin mortalidad (5%) mientras que en las otras tres, todas las almejas están fuera del sustrato y con una fuerte mortalidad (50-100%).

Los registros de biomasa realizados en zonas cubiertas por tapiz de *Enteromorpha ramulosa* y en zonas con piedras con *Sargasum*, *Fucus*, *Enteromorpha intestinalis* arrojan resultados entre 1,1 y 1,6 kilogramos de peso fresco escurrido de algas por metro cuadrado (1,1-1,6 Kg PF/m²).

Tensión de oxígeno

Durante las horas de mayor insolación se registran tensiones de oxígeno superiores al 200% de saturación mientras que por la noche estos valores descienden por debajo del 100%.

Tras dos horas de oscuridad se registra un gradiente negativo en la tensión de oxígeno desde la superficie (92% \approx 7,6 mg O₂ a 18,8 °C) hasta el fondo cubierto por el tapiz de algas (21% de saturación \approx 1,6 mg O₂) situado a un metro de profundidad. Esta estratificación (constatada en la zona intermareal) implica que existe un lento trasiego de oxígeno por difusión de un punto a otro de la columna de agua.

Bajo el tapiz de algas y en el sustrato se han registrado valores de sólo 10,5% de saturación (0,8 mg O₂/l a 17,7 °C). Es decir condiciones prácticamente anóxicas.

Conclusiones; Comprobación *in situ* del efecto de los acúmulos algales:

Las limpiezas de algas por arrastre con red, se limitan únicamente a zonas de arenal o lodo fangosas sin piedras ni rocas donde se pueda sobrecargar o enganchar el arte.

Es recomendable limpiar de piedras sueltas las concesiones dado que las mismas ocupan superficies muy considerables. Además, las piedras sirven de soporte a numerosas algas, especialmente *Enteromorpha intestinalis*, amén de funcionar como trampas de otras algas móviles, concentrándolas en las mencionadas algas e impidiendo su movilidad.

Se recomienda así mismo allanar lo más posible los arenales, evitando depresiones y barras que impidan la circulación de agua y algas desprendidas, favoreciendo el efecto trampa y produciendo acumulaciones de algas.

Metodología; Ensayos en laboratorio: Bioensayos

Con el fin de cuantificar el metabolismo de las algas en estudio y poner de manifiesto su capacidad de producir anoxia en los fondos, se realizan varios ensayos en laboratorio.

Demanda de oxígeno de especies algales

Se diseña y construye una unidad termostatazada para registro de tasas de consumo de oxígeno, se mide en continuo en oscuro y a diferentes temperaturas, la respiración de una biomasa dada de *Enteromorpha sp* desde una situación de sobresaturación de oxígeno en el agua (200%) hasta alcanzar condiciones de cuasi anoxia (0,1%).

Efecto de la anoxia sobre bivalvos

Con el fin de delimitar el efecto de las bajas tensiones de oxígeno, combinadas con altas temperaturas, y los niveles de tolerancia de los bivalvos objeto de explotación en las concesiones marisqueras en zona intermareal, se realizan varios ensayos en el laboratorio.

Los experimentos se realizan estabulando ejemplares de almeja fina, almeja babosa y berberecho en recipientes herméticos llenos de agua con niveles de solo 0,1 mg de oxígeno por litro, a tres temperaturas diferentes, 18, 25 y 30 °C, con el fin de evidenciar su resistencia a éste factor de estrés. Los valores aplicables a condiciones ambientales únicamente serían los de 18 °C.

Resultados; Ensayos en laboratorio: Bioensayos

Demanda de oxígeno de especies algales

Los resultados indican poca variación en el metabolismo de las algas para el rango existente en los arenales durante la primavera y verano (15-20 °C).

La tasa de consumo de oxígeno de *Enteromorpha sp* durante los primeros 30 minutos es muy elevada debido a la deuda acumulada de oxígeno durante la emersión. Una vez que se alcanza la tasa normal de respiración, se comprueba que se sitúa en torno a 120 – 130 mg de oxígeno por kilogramo de peso fresco de alga y por hora y mientras existe una disponibilidad de oxígeno en el medio superior al 20% de saturación. Por debajo de éste punto, la tasa respiratoria disminuye.

Efecto de la anoxia sobre bivalvos

Los resultados que se presentan a continuación se expresan como el límite letal para el 50% de la población.

LT ₅₀ anoxia	30 °C		25 °C		18 °C	
	horas	días	horas	días	horas	Días
Berberecho	24	1	33	1 ^{1/2}	33	1 ^{1/2}
Almeja babosa	24	1	35	1 ^{1/2}	160-190	6 ^{1/2} - 8
Almeja fina	36	1 ^{1/2}	105	4 ^{1/2}	160-330	6-14

A 18 °C, temperatura media del agua en primavera – verano, el berberecho sobrevive día y medio, mientras que las almejas lo hacen durante 6 a 14 días en estas condiciones.

Se constata que, a 30 °C, ninguna de las especies soporta estas condiciones más de día y medio. A 25 °C el berberecho y la almeja babosa no soportan tampoco más que día y medio mientras que, la almeja fina lo hace durante 4 días y medio.

Conclusiones; Ensayos en laboratorio: Bioensayos

Demanda de oxígeno de especies algales

En una hora la capa de agua de 2 – 3 cm sobre el sustrato alcanza condiciones de hipoxia severa (± 1 mg O₂/l), condiciones que pueden mantenerse largo tiempo de acuerdo con los datos observados de estratificación de la columna de agua.

Efecto de la anoxia sobre bivalvos

La almeja fina es la especie más resistente a las condiciones de anoxia (6 a 14 días), seguida de la almeja babosa (6 a 8 días).

El berberecho resulta muy afectado por las condiciones de falta de oxígeno.

La temperatura es un claro factor limitante, para las mismas condiciones de anoxia la subida de temperatura afecta muy negativamente aún cuando los 25 y 30 °C sólo se alcanzan esporádicamente y nunca dentro del sustrato.

En condiciones continuas de anoxia, la almeja puede sobrevivir largo tiempo, por lo que ésta causa no es la principal a la hora de contabilizar la mortalidad en las poblaciones.

COMENTARIOS FINALES.

Ninguno de los sistemas de arrastre de redes utilizados supone una mejora en el rendimiento respecto a los sistemas tradicionales usados hasta el momento. El trasmallo no es una red adecuada para estas faenas y el empleo de la rapetiña tampoco supone mejora alguna sobre los métodos tradicionales de limpieza.

La anoxia por sí misma no parece ser la única causa de las mortalidades de bivalvos, ya que la almeja fina y la babosa soportan condiciones de anoxia durante varios días seguidos. La mortalidad de los bivalvos reside en la concurrencia de varios factores negativos o estresantes junto con la anoxia – hipoxia. La eliminación de algas permitiría evitar consecuencias de anoxia – hipoxia, con un previsible efecto positivo sobre las poblaciones de bivalvos que resistirían mejor el periodo final del ciclo reproductivo, momento en el que se encuentran muy debilitados.

La limpieza de algas ha de ser más frecuente que lo que permite la periodicidad de las mareas, por lo que se requeriría un sistema de limpieza que funcionase durante la pleamar.

6. PROYECTO: INDUCCIÓN A PUESTA Y CULTIVO DE SEMILLA DE OREJA DE MAR (*Haliotis tuberculata*), EN EL MEDIO NATURAL

AÑO:

Comienzo del plan: 1995
Finalización del plan: 1995

OBJETIVOS:

La finalidad principal del proyecto es estandarizar los posibles sistemas de producción de larvas y cultivo de post-larvas en condiciones controladas, para posteriormente sembrar y analizar la respuesta al cultivo exterior de la semilla que actualmente se mantiene en condiciones controladas de criadero.

Paralelamente se analizan las vías y mecanismos de incorporación de las biotoxinas en esta especie, mantenimiento de juveniles en diferentes tipos de dietas; así como los procesos de desintoxicación.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.
Centro: Centro de Investigacions Mariñas.

Coordinador del plan:

Nombre: Alejandro.
Apellidos: Guerra Díaz.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Lo toma de muestras tiene lugar en la Ría de Arousa.

Los análisis necesarios para llevar a cabo el estudio se realizan en el Centro Investigacions Mariñas (en Vilaxoán, Ría de Arousa).

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

Metodología de reproducción de la oreja de mar en el medio natural:

Desde enero de 1995 hasta enero de 1997 se muestrean y analizan un mínimo de 15 especímenes adultos obtenidos en la zona sublitoral, en el área comprendida entre Punta de Quilme y Punta Igafa en la Isla de Arousa. Los muestreos se realizan mensualmente, excepto en los periodos de mayor actividad reproductiva en los que se acorta este periodo. De los individuos de cada muestreo se registra la talla, el peso y el color que presentan las gónadas de cara a promover la inducción de las puestas.

Con el fin de determinar el estado y evolución del desarrollo gonadal, de cada ejemplar se disecciona el apéndice cónico. Para la realización de las preparaciones histológicas se siguen las técnicas que habitualmente se usan en el Departamento de Patología del Centro de Investigacions Mariñas, para las preparaciones histológicas de ostra plana, introduciéndose ligeras variaciones en cuanto a los periodos de

deshidratación de los tejidos y líquidos empleados para la fijación y tinción de muestras.

Del apéndice cónico de cada individuo se secciona un tramo de la zona intermedia. Posteriormente, y una vez sometido al proceso de preparación histológica, se efectúan cortes histológicos seriados de un espesor de 5 micras. De cada individuo se efectúan un mínimo de cuatro cortes histológicos.

Del análisis de las preparaciones histológicas se determina:

- 1- Sex-ratio: relación porcentual de machos y hembras de las muestras.
- 2- Índice gonadal (I.G.).
- 3- Desarrollo del ciclo gametogénico: para poder clasificar a los individuos en función del grado de maduración gonadal con el fin de estudiar el ciclo de desarrollo de la gónada, se establecen en machos y hembras seis estadios:
 - a- Estadio I o Reposo sexual.
 - b- Estadio II o Involución – Reposo sexual.
 - c- Estadio III o Recuperación – Desarrollo.
 - d- Estadio IV o Pre - maduro 1.
 - e- Estadio V o Pre- maduro 2.
 - f- Estadio VI o Maduro.

Resultados de reproducción de la oreja de mar en el medio natural:

Sex – ratio

En la siguiente tabla se puede ver la proporción de machos y hembras, así como la relación machos: hembras, en los dos años en los que se realizó el muestreo.

	Nº total individuos	Machos		Hembras		H:M
		Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	
1995	138	78	56,52 %	66	47,82 %	1H:1,18M
1996	135	71	52,59 %	64	47,4 %	1H:1,11M

Al desglosar y analizar esta relación, individualizando cada uno de los meses en que se efectúa el muestreo de *Haliotis*, se observa que la presencia de H:M es variable, incrementándose la de hembras en los muestreos realizados en los meses más calurosos (junio y septiembre en 1995 y en julio y agosto en 1996). Durante los muestreos de los meses de julio y agosto de 1995 y de enero, principios de octubre y noviembre de 1996, la proporción de machos y hembras está prácticamente equilibrada. Corresponde a los meses de abril, junio, agosto y diciembre de 1995 y a marzo, abril, mayo y último muestreo de octubre de 1996, el menor porcentaje de hembras.

Índice Gonadal

En el primer año, 1995, a partir de mayo y hasta el mes de noviembre, el IG supera el nivel 80. Esto indica que el tejido gonadal que rodea al hepatopáncreas, ocupa mayoritariamente el apéndice cónico. En este período, el grado de maduración de la gónada es muy elevado, con un máximo que se extiende entre los meses de junio y agosto. Le sigue un descenso en septiembre, que parece indicar una puesta natural abundante en este mes, al que sigue una nueva restauración gonadal que empieza a declinar a finales del mes de octubre, hasta alcanzar un mínimo en enero del siguiente año muestreado.

En el segundo año, 1996, el periodo en que el IG supera el nivel 80, se inicia a partir del mes de abril y se mantiene hasta finales del mes de agosto. En su evolución, aparece un ligero descenso en el mes de junio, que parece indicar una puesta parcial, y posteriormente, una puesta masiva a partir de los meses de agosto y septiembre a la que sigue un descenso en este índice que supone una depleción gonadal.

Desarrollo y evolución del ciclo gametogénico

En 1995 se observa que el desarrollo gonadal, estadio III, se inicia en algunos ejemplares en el mes de febrero. Un mayor desarrollo de la gametogénesis (estadios IV y V) se inicia en marzo y continúa hasta principios de agosto. También se observa que los primeros individuos pre-maduros (estadio V) aparecen en el mes de mayo, y es a partir de éste mes en el que se observa un IG superior al 80%, lo que indica que el desarrollo gametogénico se encuentra muy avanzado.

Los primeros individuos maduros (estadio VI) se detectan a partir de junio, instante en el que los individuos presentan un porcentaje de ocupación gonadal de un 90%. En el estadio VI se alcanza el máximo desarrollo gametogénico y, por tanto, la gónada aparece llena de productos sexuales maduros que ocupan un amplio espacio dentro del conjunto del apéndice cónico. Entre junio y noviembre es el periodo en el que se detectan ejemplares maduros preparados para emitir los productos sexuales al medio marino.

Por lo tanto, en 1995, los meses con mayor porcentaje de individuos maduros son los de finales de agosto y octubre.

En 1996, se detectan en el mes de enero individuos en estado premaduro-2 (estadio V), que probablemente darán lugar a individuos plenamente maduros (nivel VI) en el mes de marzo.

Probablemente estos individuos “prematamente” maduros, es decir, fuera de la época normal de puesta, procedan de restos de una maduración tardía ocurrida en 1995, que podría dar lugar al desarrollo posterior de estos individuos durante el invierno del segundo año.

Un activo desarrollo gonadal abarca desde el mes de enero hasta el mes de abril. Se observa otro periodo en noviembre y diciembre, que puede ser indicativo de una restauración o recuperación de las estructuras gonadales que darían paso al inicio de un nuevo ciclo gametogenético en los meses posteriores. Se detecta que, ya en el mes de marzo, comienzan a aparecer los primeros ejemplares maduros, aunque en un porcentaje muy pequeño; es en el mes de mayo cuando podemos decir que comienza la época de madurez sexual y que abarca hasta septiembre. Los mayores "pools" de individuos maduros se encuentran en los meses de mayo, junio y julio. De todo esto se deduce que la época de desove en este año abarca desde mediados de la primavera hasta el inicio del otoño.

Se aprecia también, en el año 1996, un bajo porcentaje de individuos en los estadios III y IV en los meses precedentes a la época de máxima maduración, lo que podría indicar un proceso de maduración rápido precedido de un corto periodo de desarrollo gametogenético.

Relación del grado de maduración y del índice gonadal con la temperatura.

Los valores de temperatura media durante el año 1995, aumentan de forma progresiva desde enero hasta junio, descendiendo suavemente hasta noviembre, momento en el cual se produce un descenso rápido hasta enero del año siguiente. Se observa una relación entre la madurez de los individuos y la temperatura, pues el mayor porcentaje de individuos maduros, tanto de machos como de hembras, se ajusta a los meses de junio a septiembre, meses con las temperaturas más altas, correspondiéndose también con los meses en que los individuos presentan un índice gonadal más alto.

En 1996 se observa un aumento progresivo de la temperatura desde el mes de enero hasta el mes de mayo, momento en que se produce una elevación brusca de la temperatura hasta junio. Posteriormente se produce otro aumento rápido de la temperatura hasta llegar al máximo en agosto, con un descenso progresivo, más o menos acentuado, hasta diciembre. En éste año, al igual que en 1995, se ve que el porcentaje de individuos maduros, tanto machos como hembras, es mayor durante los meses de temperaturas más altas.

El índice gonadal (IG) aumenta siguiendo las pautas de aumento de la temperatura. Al alcanzar la temperatura máxima, el IG desciende rápidamente, indicando que se está ante un periodo de desove.

Conclusiones de reproducción de la oreja de mar en el medio natural:

Sex – ratio

La presencia de H:M es variable a lo largo del año, siendo mayor el porcentaje de hembras en los meses más calurosos y mayor el porcentaje de machos en los meses de primavera.

Índice Gonadal

En los dos años se advierte una elevada variación en el IG que se manifiesta a través de la amplitud de la desviación estándar, principalmente en los meses de invierno en los que decae la actividad gametogénica. Este efecto puede explicarse debido a la existencia, en las muestras de estas épocas, de individuos con desarrollo gonadal muy diferente en cuanto al grado de madurez. Es característico que en éstas muestras aparezcan individuos totalmente “vacíos” de contenido gonádico a la par que otros en avanzado estado de desarrollo gonadal.

Desarrollo y evolución del ciclo gametogénico

En general, se observa que el número de especímenes maduros (estadio VI) es más amplio en 1995 que en 1996. También se aprecia que la maduración total de los individuos tiene lugar más tarde en 1996, prolongándose más en el tiempo. Los primeros ejemplares maduros se detectan en el mes de junio de 1995, sin embargo, se continúan encontrando ejemplares maduros hasta bien entrado noviembre, por lo que el periodo en el que puede ser factible el desove abarca todo el verano hasta bien entrado el otoño.

Relación del grado de maduración y del índice gonadal con la temperatura.

La maduración gonadal aumenta de forma progresiva a medida que aumenta la temperatura, siendo en los meses de temperaturas más altas en los que se produce la máxima maduración gonadal.

En los meses de enero a abril, meses en los que tiene lugar el desarrollo gonadal (estadio III), se produce un aumento brusco de la temperatura hasta llegar a mayo en el que el desarrollo gonadal es máximo (estadio VI). Este aumento brusco en tan corto periodo de tiempo puede explicar el paso de la población de este año, del estadio de desarrollo sexual (III) al estadio maduro (VI), con un corto periodo de tiempo de desarrollo gametogénico (estadios IV y V).

Metodología del cultivo de la semilla obtenida por técnicas de puesta inducida:

Los individuos (escasos debido a que se produce una elevada mortalidad por los fuertes y sostenidos descensos de salinidad), se mantienen en régimen de cautividad, con alimentación “*ad libitum*”, compuesta por macroalgas intermareales de la zona de Vilaxoán y de Couso, en la Ría de Arousa.

Los contenedores para el cultivo de semilla son acuarios de cristal de 75 l de capacidad. La densidad de cultivo es de 500 ud/m² el primer año y de 200 ud/m² el segundo año.

Periódicamente se miden un mínimo de 30 especímenes elegidos de forma aleatoria. No se estiman otros parámetros, aparte de la longitud, debido al daño que provocaría en los individuos el despegarlos del sustrato al que se encuentran adheridos.

Resultados del cultivo de la semilla obtenida por técnicas de puesta inducida:

La evolución del crecimiento de los individuos de oreja de mar es la siguiente:

- Al medio año de cultivo, los individuos apenas superan los 10 mm de longitud.
- Al año de cultivo, los individuos superan los 20 mm de longitud.
- Al año y medio los individuos llegan a los 30 mm, momento en el cual, pasan al cultivo exterior en cestos ostrícolas suspendidos en bateas.

Conclusiones del cultivo de la semilla obtenida por técnicas de puesta inducida:

Se observa una tendencia irregular en el crecimiento que aparece marcada por dos hechos:

- a- Fuerte mortalidad, causada por la bajada de la salinidad (entre los días 180 y 240), que prácticamente diezma a la población.
- b- Disponibilidad de determinado tipo de macroalgas que impiden una alimentación adecuada en determinadas épocas del año.

Metodología de la evolución temporal de la biotoxina P.S.P:

Paralelamente a la extracción de los individuos para el análisis reproductivo, se colectan especímenes hasta conseguir aproximadamente unos 250 g de vianda en cada muestreo. Los análisis de biotoxinas PSP se realizan en el Centro de Control de Calidade do Medio Mariño dependiente de la Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura.

El método de análisis seguido está contenido en el Decreto 116/1995 (D.O.G. Nº 87, del 8 de mayo de 1995).

Resultados de la evolución temporal de la biotoxina P.S.P:

Los análisis se efectúan sobre ejemplares del banco de Quilme (Isla de Arousa).

La biotoxina PSP aparece prácticamente en todas las muestras analizadas. En 1995 se registra un alto nivel de biotoxina PSP, superior a los niveles legalmente permitidos para su comercialización (80µg de PSP/100 g de carne).

En 1996 los niveles de biotoxina disminuyen de forma progresiva a lo largo del año, manteniéndose en estas zonas en un nivel inferior al legal (80µg de PSP/100 g de carne).

Conclusiones de la evolución temporal de la biotoxina P.S.P:

Se detecta que el nivel de biotoxina puede variar entre los individuos de una misma muestra, así como entre los individuos de poblaciones relativamente próximas. Por otra parte, en los análisis que se realizan con objeto de establecer una posible relación entre el sexo de los individuos y el nivel de biotoxinas, no encuentra relación alguna.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Galicia:

- **1993-94:** Desarrollo de líneas de estudio sobre oreja de mar (*Haliotis tuberculata*) en Galicia.

COMENTARIOS FINALES.

Los resultados, en lo que se refiere a cultivo de semilla en cautividad y contenido en biotoxinas, no apoyan un futuro inmediato halagüeño para el cultivo de esta especie.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

En el IX Simposio del Bentos Marino, en Alcalá de Henares (1996), se presentó la comunicación titulada “Estudios sobre la alimentación de la oreja de mar (*Haliotis tuberculata* L.) en Galicia (NO España), que se recoge en las Actas del IX Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino.

En el VI Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Murcia (1997) se presentó la comunicación titulada “Reproducción de la oreja de mar, *Haliotis tuberculata* L. en la Ría de Arousa”, que se recoge en las Actas del VI Congreso Nac. Acicult.: 143-149.

En el Simposio II CLAMA y VI RENAMAC, celebrado en La Ensenada –Baja California en Méjico (1997) se presentó el trabajo titulado “Desarrollo gametogénico de la oreja de mar, *Haliotis tuberculata* L., en Galicia (N.O. de España). II CLAMA y VI RENAMAC, que se recoge en las Actas del III CLAMA y VI RENAMAC.

7. PROYECTO: OPTIMIZACIÓN DEL CULTIVO SOBREELEVADO DE OSTRA PLANA (*Ostrea edulis*) EN ZONA INTERMAREAL EN LAS RÍAS GALLEGAS.

AÑO:

Comienzo del plan: 1995
Finalización del plan: 1996

OBJETIVOS:

Determinación de parámetros de cultivo, que permitan alcanzar la talla comercial antes del segundo verano. Los parámetros a ensayar y determinar son los siguientes:

- Nivel mareal de colocación del cultivo.
- Densidad de estabulación de la ostra en las bolsas.
- Fijación de algas y animales marinos en las bolsas.

Conocimiento del crecimiento, mortalidad y nivel de infestación de la ostra, en condiciones de cultivo sobreelevado en zona intermareal.

Contabilización de las jornadas de trabajo manual necesario para las diversas tareas de manipulación: limpiezas, desdobles, separación de tallas.

Elaboración de un manual concreto y práctico sobre el cultivo sobreelevado.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura.
Centro: Centro de Investigaciones Marinas de Corón.
Centro Experimental en Acuicultura de Couso.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Alberto.
Apellidos: de Coa Martín.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La ubicación de las experiencias se realiza en las zonas intermareales de "Borreiros" y "O Castelete", pertenecientes a la Cofradía de Vilanova de Arousa y situadas en el margen sur de la Ría de Arousa.

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

Metodología:

En cada estación de estudio se colocan 10 mesas de 0,5 m de altura, construidas con varilla de tetracero, sobre las que se colocan bolsas de plástico de distintos diámetros de malla, desde 1 mm a 18 mm, enganchadas a las mesas por gomas con ganchos o por cinchas, quedando los moluscos cultivados en un único compartimento de estabulación. Los cultivos se realizan a dos niveles mareales diferentes, 0,5 y 1 m sobre la bajamar escorada. A lo largo de todo el año se realiza un seguimiento de las variaciones de temperatura y salinidad en ambas zonas.

Las experiencias se llevan a cabo con 30 partidas de ostra plana (los pesos individuales iniciales varían entre 25 y 68,684 mg) procedentes del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo, del Centro de Experimentación en Acuicultura de Couso, Ostreira S.A. y ostras de cultivo de Vilaxoán y Vilanova. Se realizan 244 pruebas de cultivo en las que se emplean diferentes densidades, distintos niveles de cultivo y distinta zona de cultivo.

Los muestreos se realizan mensualmente. De cada muestra se obtiene el peso húmedo individual medio (P_{hi}), la talla media (H), eje dorso-ventral, mediante dos ecuaciones de regresión obtenidas a partir de las medidas de talla y peso de 828 ostras:

Ostras menores de 10 mm \Rightarrow $\text{Log}(P_{hi}) = -3,03151 + 2,015619 \log(H)$
 $r^2: 0,637321$ (n=828).

Ostras mayores de 10 mm \Rightarrow $\text{Log}(P_{hi}) = -4,14227 + 3,077531 \log(H)$
 $r^2: 0,965586$ (n=828)

El porcentaje de mortalidad (M) se calcula como la relación entre el número de conchas sin vianda y el número de ostras vivas. Se calcula el crecimiento estacional en peso y talla.

Resultados:

Las tasas de crecimiento estacionales medias (de las bolsas de cultivo colocadas a densidades adecuadas), obtenidas por rangos de peso, se muestran en la siguiente tabla:

Tasa de crecimiento (G30)					
Ph_i (mg)	5	50	500	5.000	50.000
Invierno 1996	≈25	≈25	≈15	≈15	≈15
Primavera 1996	≈200	≈145	≈80	≈40	≈10
Verano 1996	≈200	≈155	≈110	≈55	≈15
Otoño 1996	≈90	≈75	≈60	≈40	≈10
Invierno 1997	≈70	≈60	≈40	≈20	≈10

El crecimiento esperado de un cultivo de ostra plana que se inicia con una semilla de 4 mm y se pretende que alcance la talla legal, varía entre 10 y 14 meses de cultivo según la estación de inicio del cultivo. El invierno de 1996 ha sido un invierno especialmente malo para el cultivo, mientras que el invierno de 1997 ha presentado unas condiciones buenas para el crecimiento, sin las bajadas de salinidad que se produjeron en el invierno de 1996.

En condiciones favorables, las tasas de crecimiento de los individuos más pequeños son mucho más elevadas que las de los individuos mayores, de tal forma que una ostra de 5 mg puede llegar a multiplicar por 7,2 su peso, alcanzando al cabo de un mes los 36 mg (correspondiente a una tasa de crecimiento de 198,11), mientras que, una ostra con un peso inicial de 50 mg, en iguales condiciones, sólo multiplicaría por 1,08 su peso inicial, llegando a 54 mg al cabo del mes (correspondiente a una tasa de crecimiento de 8,30).

Por otro lado, los márgenes entre los que se mueven las tasas anuales de crecimiento son mucho más amplios en ostras de menor tamaño. Las diferentes estaciones anuales implican diferencias en las condiciones ambientales, las cuales provocan diferencias en el crecimiento.

Los porcentajes mensuales medios de mortalidad (de las bolsas de cultivo colocadas a densidades adecuadas) de cada estación, por rangos de pesos, aparecen en la siguiente tabla:

Porcentajes mensuales medios de mortalidad en % en cada estación		
	5 mm – 20 mm	+20 mm
Invierno 1996	5,31	22,11
Primavera 1996	1,07	2,09
Otoño 1996	3,15	6,55
Verano 1996	5,5	7,19
Invierno 1997	7,38	5,57

Si el cultivo de ostra comienza en invierno (febrero) con semilla de 4 mm, el periodo completo de cultivo hasta alcanzar la talla legal de 60 mm es de 11 meses, con un porcentaje de mortalidad de 44,76%.

Si el cultivo de ostra comienza en primavera (mayo) con semilla de 4 mm, el periodo completo de cultivo hasta alcanzar la talla legal de 60 mm es de 10 meses, con un porcentaje de mortalidad de 49,07%.

Si el cultivo de ostra comienza en verano (agosto) con semilla de 4 mm, el periodo completo de cultivo hasta alcanzar la talla legal de 60 mm es de 14 meses, con un porcentaje de mortalidad de 62,41%.

Si el cultivo de ostra comienza en otoño (noviembre) con semilla de 4 mm, el periodo completo de cultivo hasta alcanzar la talla legal de 60 mm es de 13 meses, con un porcentaje de mortalidad de 50,81%.

El porcentaje de mortalidad de los meses de invierno en los individuos de más de 20 mm, calculado como la media entre los dos inviernos, se eleva mucho debido a la elevada mortalidad que en el invierno de 1996 presentan las ostras mayores de 40 mm como consecuencia de las bajadas de salinidad que se producen en la playa de Borreiros.

En la siguiente tabla se muestran las densidades adecuadas de cultivo, según la época y la talla inicial de la semilla:

	Otoño - Primavera	Primavera – Verano
Rangos de tallas	Densidades (Kg/m ²)	Densidades (Kg/m ²)
5 mm – 10 mm	0,5	0,25
10 mm – 20 mm	1	0,5
20 mm – 40 mm	2	2
+ 40 mm	8	8

Sobrepasar estas densidades provoca efectos diferentes según la estación de cultivo. En el siguiente cuadro se aprecian las diferencias producidas en cultivos a alta densidad y baja densidad en función de la estación del año:

Estación	Talla media inicial	Densidad de cultivo (Kg/m ²)	Talla media al mes	Mortalidad	
Invierno	8,25 mm	Alta	2	8,37 mm	Similar a ambas densidades
		Baja	0,5	9,64 mm	
Otoño	23 mm	Alta	4	24,71 mm	6,6 %
		Baja	1	27,11 mm	0 %
Verano	5,51 mm	Alta	2	8,03 mm	3,6 %
		Baja	0,25	11,26 mm	0%

Se observan diferencias de crecimiento entre las bolsas situadas en diferentes niveles mareales en los meses entre mayo y agosto, siendo mayor el crecimiento en las bolsas situadas a 0,5 m que en las situadas a 1 m. Debido al cambio brusco de condiciones que supone el paso de hatchery al medio natural, las tasas de crecimiento el primer mes de cultivo son menores que las esperadas.

Conclusiones:

Las tasas de crecimiento de la ostra plana varían entre amplios márgenes dependiendo de factores como el peso inicial, la estación anual, la densidad de cultivo, el nivel mareal y la procedencia de la semilla.

La densidad adecuada de cultivo depende de dos factores, la estación y la talla de la semilla.

El crecimiento obtenido en el cultivo sobreelevado en bolsas es muy similar al obtenido en cultivo suspendido en batea. En cuanto a los porcentajes de mortalidad, éstos son inferiores a los obtenidos en batea.

COMENTARIOS FINALES.

Con unas densidades adecuadas y realizando las labores de limpieza y desdoble necesarias, se puede llevar a cabo el cultivo completo de ostra plana en sistema sobreelevado en bolsas, obteniendo ostras de tamaño comercial antes del segundo verano de cultivo, creándose así un complemento interesante al cultivo de la almeja en la zona intermareal.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Ponencia presentada en el VI Congreso Nacional de Acuicultura con el nombre de “Cultivo de ostra plana (*Ostrea edulis*) en sistemas sobreelevados”.

8. PROYECTO: SISTEMAS FLOTANTES DE CAPTACIÓN DE SEMILLA DE MEJILLÓN MEDIANTE LONG-LINES

AÑO:

Comienzo del plan: 1997
Finalización del plan: 1997

OBJETIVOS:

- 1- Experimentar sistemas colectores de semilla de mejillón suspendidos en líneas flotantes y evaluar su rendimiento a lo largo del año en las zonas seleccionadas de las Rías de Muros, Ares y Camariñas.
- 2- Evitar la depredación “in situ” de la semilla fijada mediante colectores y proponer medidas correctoras.
- 3- Evaluar el rendimiento de la semilla de mejillón fijada en función de las épocas de fijación.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.
Centro: Centro Investigaciones Marinas de Corón.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Salvador.
Apellidos: Guerrero Valero

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Varios son los puntos seleccionados para el experimento en *long-lines*; dos en la Ría de Muros (Esteiro y Muros), otro punto seleccionado, se encuentra situado en las Rías Altas (Ría de Ares), punto libre (Sada 2) del polígono de Lorbé, con 15 m de profundidad. El último punto se encuentra en la Ría de Camariñas cuadrícula 19, polígono A situado en el límite de la concesión de Arrecifes del Atlántico, empresa que cultiva pulpo en jaulas flotantes y que tiene instalaciones en Muxía.

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

Metodología:

El “long-line” es una estructura flotante formada por dos boyas principales y una cuerda de 25 metros de longitud con 19 boyas atuneras secundarias situadas regularmente con función de flotadores. Cada boya está sujeta al fondo mediante una cuerda que va conectada a 10 metros de cadena con grillete y guardacabos que a su vez está amarrada a un peso muerto de una tonelada, peso suficiente para evitar su desplazamiento con las corrientes.

El tipo de colector utilizado es una cuerda mejillonera de 6 metros de longitud atravesada con un palillo de plástico cada metro para evitar el desprendimiento de semilla con un peso adicional para evitar que se pueda enredar con otras cuerdas.

El anclaje del sistema se realiza mediante dos pesos muertos, cada uno de ellos situados en un extremo del “long-line” que descansan sobre el fondo.

Mensualmente se realiza el muestreo de los “long-lines”. El izado de los colectores se realiza con barcos equipados especialmente para tales funciones, habitualmente empleados en el sector mejillonero y cedidos por las empresas colaboradoras. El método de recolección, transporte y conservación de las muestras varía en función del grado de desarrollo de los individuos, así se establece de forma más o menos rutinaria que, cuando en el colector no se ven individuos a simple vista, se toman filamentos cortados de la cuerda principal en número de 6 aproximadamente para observar a la lupa binocular. Al mismo tiempo, al estar toda la cuerda - colectora fuera del mar, se hace una observación *de visu* para determinar cualquier eventualidad.

El experimento se inicia en el mes de Mayo de 1998 y finaliza en enero del 2001.

Desde el comienzo del estudio, mensualmente se instala una cuerda mejillonera en cada línea experimental. Al tiempo que se instala una nueva cuerda mejillonera se recogen muestras de las anteriores para su posterior estudio. Cuando el mejillón alcanza un tamaño entre 3,5-4 cm se cosecha en su totalidad.

Las muestras se llevan al CIMA donde se analizan. Primeramente se lavan y se separan submuestras para detectar las fijaciones del mejillón en sus primeros momentos.

Las medidas de biomasa en peso fresco y talla se hacen sobre una muestra de 50 individuos.

En el último muestreo de las cuerdas mejilloneras se cosecha todo el mejillón adherido en un metro del colector y se pesa para conocer el rendimiento final del colector.

A la par que se obtienen los datos de los muestreos realizados, también se dispone de una base de datos cedida por el Centro de Control de Calidade do Medio Mariño con los parámetros oceánicos de la zona.

Resultados:

La fijación de los mejillones es variable a lo largo de todo el año, siendo más intensa desde mayo hasta octubre, periodo en el que la cuerda mejillonera se coloniza rápidamente. A partir de octubre y hasta diciembre la fijación disminuye y aparece de forma muy escasa. Se encuentra presencia de postlarvas de mejillón todos los meses estudiados, siendo más escasa en invierno, prácticamente nula en diciembre.

Dentro de la misma Ría de Muros y comparando en un mismo año las dos estaciones (Muros y Esteiro), se observa que la cosecha final en peso fresco total es muy similar en ambas estaciones.

Comparando entre 1998 y 1999, también existe una relación entre la temperatura del agua y la presencia de postlarvas de mejillón en colectores *long-line* en las Rías Gallegas, de manera que se observa la presencia de larvas bivalvos en los colectores desde el inicio de la primavera, mientras que la presencia de postlarvas de mejillón se observa únicamente en los meses en que se encuentran valores de clorofila altos, lo que indica que la estrategia reproductiva del mejillón se extiende por fuera de los picos de reproducción estacionales permitiendo puestas ocasionales viables o desfases de hasta dos meses en la presencia de la primera semilla de mejillón en los colectores.

En las dos rías comparadas hay diferencias en talla y peso de la semilla de mejillón encontrada en los colectores flotantes y van paralelas a las diferencias acumuladas en la temperatura y valores de clorofila α hallados en el agua del mar. La fijación de los colectores *long-line* se determina durante un ciclo anual. Postlarvas tamizadas entre filtros de 300 μ y 900 μ se observan entre mayo y diciembre, pero las mayores fijaciones se producen en el mes de junio alcanzando una biomasa en peso húmedo de mejillón en el momento de cosechar de 62 Kg/cuerda en Muros y 50 Kg/cuerda en La Coruña. El mejillón cosechado en cada cuerda experimental se desdobra en dos cuerdas de cultivo de 12 metros de batea.

Las diferencias de temperatura acumulada son responsables del desfase en la aparición de postlarvas de mejillón en las dos áreas de cultivo, sin embargo, una vez iniciado el proceso de reproducción, el desarrollo a lo largo del año es el mismo en ambas con unos máximos en el mes de junio.

La semilla obtenida en colectores *long-line* es apreciada por los cultivadores ya que se presenta limpia, de tamaño uniforme, libre de parásitos y competidores a diferencia de la obtenida siguiendo la forma tradicional en roca intermareal.

En el estudio realizado se constata la pérdida de flotabilidad de las boyas a lo largo del tiempo, debido al incremento de biomasa del mejillón adherido a los colectores y a las fijaciones o “fouling” natural.

Conclusiones:

El *long-line* es el sistema a utilizar para incrementar la obtención de semilla al producirse una alternativa a los métodos tradicionales como son la obtención de semilla de roca mediante recolección en la franja intermareal o la obtención de semilla mediante la técnica llamada de “chicoteo” en el que se obtiene un mejillón de similar calidad al de *long-line*. La ventaja adicional para el cultivador de mejillón con *long-line* es que no se emplea para la obtención de semilla ningún espacio de la batea y podría utilizarse en su totalidad para el engorde.

Las fijaciones naturales adheridas a las boyas (macroalgas, cirrípodos, ascidias y mejillón) hacen que toda la estructura pierda flotabilidad por lo que es aconsejable su eliminación con rasqueta. Una opción aconsejable es no iniciar la colocación del sistema en el mar hasta el mes de mayo o hasta observar las primeras postlarvas de mejillón, evitando de ésta forma el primer fouling de primavera.

COMENTARIOS FINALES.

Para la ubicación de futuras líneas en cultivo, se recomienda emplazarlas, si es dentro de los polígonos de las bateas, en los puntos de fondeo más próximos a tierra que es donde suele haber mayor fijación de mejillón.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Panel titulado “Fijación de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en long-line en las Rías Gallegas: Primeros resultados” presentado en el VII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Las Palmas de Gran Canaria en mayo de 1999.

Publicación titulada “Relación entre la temperatura del agua y presencia de postlarvas de mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en colectores long-line en las Rías Gallegas”.

Publicación presentada en el 3rd International Conference on Molluscan Shellfish Safety en junio de 2000 en Nueva York con el título “Settlement of blue mussel, *Mytilus galloprovincialis*, lamarck on longline systems in two Rías of Galicia, Spain”.

Publicación presentada al XI Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marinos celebrado en febrero del 2000 en Málaga con el nombre “Relación entre la temperatura del agua y presencia de postlarvas de mejillón, *Mytilus galloprovincialis*, en colectores long-line en las Rías Gallegas”.

9. PROYECTO: ESTUDIO PILOTO SOBRE NIVELES Y EFECTOS DEL TRIBUTILO DE ESTAÑO (TBT) EN UNA ZONA DE CULTIVO DE MOLUSCOS DE LA COSTA GALLEGA.

AÑO:

Comienzo del plan: 1998

Finalización del plan: 2000

OBJETIVOS:

El objetivo principal del presente proyecto es determinar si el tributilo de estaño (TBT) es o no es el causante del fracaso del cultivo de la ostra rizada en Galicia. Para la obtención de este propósito principal, se desglosa el trabajo en cinco objetivos secundarios:

- 1- Estado del cultivo de la ostra rizada.
- 2- Niveles y efectos en el gasterópodo *Nassarius reticulatus*.
- 3- Efectos en el gasterópodo *Nucella lapillus*.
- 4- Niveles en mejillón.
- 5- Niveles en sedimentos.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Instituto Español Oceanográfico.

Centro: Centro Oceanográfico de Vigo.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Juan José.

Apellidos: González Fernández.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

El área de trabajo comprende siete rías del litoral gallego, donde la actividad acuicultora varía desde un máximo en Arousa a un mínimo en La Coruña y Ferrol.

Se escogen 2 puntos de muestreo en las rías de Ferrol y de Ares. Tres puntos de muestreo son elegidos en la ría de Pontevedra, mientras que cuatro puntos son elegidos en las rías de La Coruña y Arousa. Cinco puntos de muestreo se eligen en la ría de Muros y, por último, seis puntos de muestreo son elegidos en la ría de Vigo.

En resumen, un total de 26 puntos de muestreo son elegidos entre las siete rías.

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

Metodología:

Estado del cultivo de la ostra rizada.

La ostra rizada únicamente se cultiva en Redondela (ría de Vigo) y en Cambados y O Grove (en la ría de Arousa), con distinto éxito en los diferentes lugares.

Se utiliza a la ostra rizada como herramienta biomonitora de la contaminación por TBT a escala regional.

*Niveles y efectos en el gasterópodo *Nassarius reticulatus*.*

Durante los meses de febrero y marzo del año 2000 se muestrean la totalidad de las localidades seleccionadas para el presente estudio. Los ejemplares de *Nassarius reticulatus* se recogen a mano durante la bajamar, tomando sólo los mayores para evitar individuos juveniles. Las muestras consisten en más de 60 animales cada una, de las cuales se examinan al menos la mitad en busca de una proporción de sexo lo más equitativa posible.

Una vez en el laboratorio, tras medir y retirar la concha, fueron sexados. Con la ayuda de una lupa binocular se mide la longitud del pene. Posteriormente, la intensidad de imposex en cada localidad es evaluada usando los dos índices más comunes, la longitud relativa del pene y el VDSI.

El tejido de todas las hembras, sin su respectivo opérculo, se guarda en el congelador hasta el momento de su envío al laboratorio encargado del procesamiento químico de las muestras.

*Efectos en el gasterópodo *Nucella lapillus*.*

El criterio de selección de las 6 localidades de las rías de Muros, Arousa y Vigo es la presencia / ausencia de machos y/o hembras portadores del Síndrome de Dumpton (SD) tomando como referencia datos de muestreos anteriores.

Se recogen a mano durante la bajamar unos 100 ejemplares de *Nucella lapillus* en cada localidad, tomándose únicamente individuos mayores.

En el laboratorio se miden los ejemplares y se retiran las conchas. Los individuos son sexados, descartándose aquellos que estén parasitados. Se mide la longitud de cada pene y la secuencia del vaso deferente (VDS).

Niveles en mejillón.

En el otoño del año 2000 se recogen muestras de mejillón silvestre en rocas intermareales de las rías de Ferrol, Ares, Arousa, Pontevedra, La Coruña, Muros y Vigo. Además, en aquellas rías que albergan cultivos intensivos de mejillón se recogen muestras de bateas (rías de Ares, Muros, Pontevedra, Arousa y Vigo).

Tanto para mejillón silvestre como para el de batea, el protocolo de recogida y tratamiento de los mejillones para su posterior análisis químico se realiza conforme a los métodos estandarizados por el IEO. El procesamiento químico se lleva a cabo de forma similar al procesamiento llevado a cabo a *Nassarius reticulatus*.

Niveles en sedimentos.

En el otoño del año 2000 se recogen muestras de sedimento superficial en zonas próximas a los puntos donde en el invierno anterior se habían tomado los ejemplares del gasterópodo *Nassarius reticulatus*.

El protocolo de recogida y tratamiento de los sedimentos para su posterior análisis químico se realiza conforme a los métodos estandarizados por el IEO.

El procesamiento químico de las muestras se realiza de forma similar al procesamiento que se llevo a cabo con *Nassarius reticulatus*.

Resultados:

Estado del cultivo de la ostra rizada.

Con independencia de la época de fondeo, la concha de la ostra rizada se deforma tremendamente en la ría de Vigo en tan sólo dos meses, rindiendo una vianda ridícula. En Arousa también ocurre una ligera deformación aunque la vianda es suficiente y las ostras pueden ser comercializadas.

*Niveles y efectos en el gasterópodo *Nassarius reticulatus*.*

En todas las poblaciones estudiadas se muestran síntomas de un imposex que es, en la mitad de las ocasiones avanzado. Hay pocas estaciones levemente afectadas (situadas en las rías de Ares, Muros y Arousa, generalmente en su parte más oceánica). Por el contrario, en las rías de Ferrol, La Coruña, Pontevedra y Vigo, hay localidades severamente afectadas, normalmente en las zonas más interiores.

En cuanto a los compuestos estánicos, el TPhT (trifenil estaño) no ha sido detectado en ninguna de las rías. La concentración total en tejido (BTs) varía desde un mínimo de 128 ng Sn g^{-1} en La Toja, hasta un máximo de 2090 ppb Sn en San Antón.

Por especies químicas, la preponderante es la TBT, seguida del DBT y, en una porción muy pequeña, el MTB.

El conjunto de estaciones de muestreo se puede dividir en tres partes, atendiendo al grado de contaminación que muestran sus ejemplares de *Nassarius reticulatus*. Las más afectadas son las situadas en las rías de La Coruña y Ferrol, junto con una localidad llamada Sada de la Ría de Ares y otra llamada Creo en la Ría de Muros; éstas dos son un tanto anómalas ya que no pertenecen a zonas de intenso tráfico marítimo. Un segundo tercio de estaciones lo componen muestras medianamente contaminadas situadas en las rías de Pontevedra, en la mayoría de las estaciones de la ría de Vigo y en las estaciones más exteriores de la ría de La Coruña y Arousa. Por último, la mayor parte de las estaciones muestreadas en las rías de Muros y Arousa resultan las menos contaminadas.

Tanto el índice RPSI como el VDSI, aumentan rápidamente en un rango de contaminación muy estrechos, estabilizándose en valores altos de RPSI y cercanos al máximo de VDSI a concentraciones de TBT superiores.

*Efectos en el gasterópodo *Nucella lapillus*.*

Se examinan un total de 581 ejemplares, de ellos 298 son machos y 283 son hembras, estando afectados por el Síndrome de Dumpton (SD) el 7% y el 31% respectivamente. Las tres hembras DS encontradas en Vilaxoán son las primeras encontradas en esta localidad. En cuanto a la secuencia del vaso deferente en las hembras, la inmensa mayoría son clasificadas como VDS 4.

El calibre medio del vaso deferente adopta no sólo un rango de valores más amplios en los individuos normales que en los afálicos (portadores del Síndrome de Dumpton), sino que también se mueve entre valores extremos superiores.

Niveles en mejillón.

Mientras que el TPhT (trifenilestaño) no es detectado en ninguna de las muestras de mejillón, las tres especies de butilo son ubicadas (salvo en tres muestras de batea donde el MBT no puede ser cuantificado).

En los mejillones de batea, la concentración total en tejido (BTs) excede las 1000 ppb Sn en tres localidades (Poio, Cangas y Rade), mientras que en las cuatro restantes oscila alrededor de las 3000 ppb Sn. Por especies químicas, la mayoría es claramente parental (TBT) seguida del DBT.

En cuanto a los mejillones de roca, se pueden distinguir tres grupos:

- 1- 9 muestras muy contaminadas (Sanxenxo y San Antón).
- 2- 5 muestras con grado de contaminación medio (Mera y Cangas)
- 3- 4 muestras menos contaminadas (Muros y Veigue).

Por especies químicas, el TBT es de nuevo la especie que más contribuye a la concentración total en tejido (48% de promedio), pero el DBT adquiere esta vez una preponderancia similar a la del compuesto parental (41% de promedio).

Para un determinado nivel de TBT en un tejido dado, los mejillones de roca concentran más DBT que los de batea.

Todas las observaciones hechas hasta ahora indican que ambos tipos de muestra (salvaje y batea) no son lo suficientemente homogéneas, por lo que a la bioacumulación de organoestánicos se refiere, como para ser tratadas de forma conjunta.

Niveles en sedimentos.

No se detecta TPhT (trifenilestaño) en ninguna de las muestras, mientras que las tres especies de butilo son ubicuas.

La muestra más contaminada es la de San Antón en la ría de La Coruña (BTs hasta 868 ppb Sn), seguida de Maniños, Range y Poio, donde los BTs oscilan alrededor de las 400 ppb Sn. Las tres muestras restantes (Veigue, La Toja y Muros) son las menos contaminadas (BTs entre 100 y 200 ppb Sn).

Considerando el conjunto de las 7 localidades, ninguna de las tres especies químicas contribuye de forma preponderante a la concentración total en sedimento. Sin embargo, en las 4 estaciones más contaminadas el TBT es claramente mayoritario seguido del DBT y el MBT. Por el contrario, en las 3 muestras menos afectadas el MBT es el más abundante, seguido del DBT y el TBT.

Conclusiones:

Estado del cultivo de la ostra rizada.

Las bateas de Vigo se encuentran prácticamente abandonadas y el proceso productivo basado en la acuicultura de la ostra rizada en Galicia sólo es completado en Arousa. La deformación de la concha de la ostra rizada es rotundamente achacable a la contaminación por medio de TBT.

*Niveles y efectos en el gasterópodo *Nassarius reticulatus*.*

Todas las rías gallegas estudiadas están apreciablemente contaminadas por TBT.

La intensidad de imposex dentro de cada ría es generalmente mayor cuanto mas de cabecera sea la localidad, aunque el establecimiento de patrones claros se ve dificultado por la variedad de focos contaminantes y la dinámica de sedimentos.

Es destacable el hallazgo en las rías de Ferrol y La Coruña de una proporción pequeña pero sustancial de hembras con cápsulas de huevos abortadas. Dado que hasta la fecha, la masculinización inducida por el TBT en *Nassarius reticulatus* estaba clasificada como “no esterilizadora”, esta novedosa observación añade al imposex en esta especie una dimensión ecológica merecedora de estudios más detallados.

*Efectos en el gasterópodo *Nucella lapillus*.*

En las poblaciones con vaso deferente impuesto por el TBT, en las hembras portadoras DS es de menor calibre que el de sus convecinas normales.

Niveles en mejillón.

Los resultados de la presente campaña de evaluación de la contaminación por compuestos organoestánicos en el mejillón, confirman que todas las rías gallegas estudiadas están apreciablemente afectadas por TBT. La contaminación del mejillón gallego resulta en ocasiones de las más altas que se han documentado en especies emparentadas de todo el mundo.

Las concentraciones de TBT detectadas probablemente estén causando efectos tóxicos crónicos en algunas poblaciones muestreadas, tanto naturales como de cultivo.

Los mejillones de roca y de batea han demostrado ser diferentes entre sí en cuanto a la bioacumulación de organoestánicos. Así, independientemente de la localidad, los de batea acumulan proporcionalmente más TBT (la forma parental más tóxica) y menos DBT que los de roca.

Niveles en sedimentos.

Todas las rías gallegas estudiadas están apreciablemente afectadas por TBT. El rango de los niveles encontrados corresponde al de sedimentos de bahías con una densidad de tráfico marítimo desde baja hasta alta.

Al menos en la ría de La Coruña, el TBT acumulado en los sedimentos está probablemente causando efectos nocivos sobre la biota local.

La estrecha relación entre TBT y DBT indica que, además de su uso en las pinturas *antifouling*, en las localidades muestreadas no hay otras fuentes de contaminación que la distorsionen.

OTROS ESTUDIOS REALIZADOS.

Comunidad Autónoma de Murcia:

- **1998:** Estudio piloto sobre los niveles de TBT en la costa española.

COMENTARIOS FINALES.

Todas las rías gallegas están apreciablemente afectadas por el TBT y sus productos de degradación. Por el contrario, no se detecta ningún tipo de fenilestánnico en ninguna de las muestras examinadas.

Por lo tanto, los niveles y los efectos del TBT en organismos silvestres y cultivados recogidos en distintas zonas de marisqueo repartidas por toda la costa gallegas son, generalmente, considerables y puntualmente severas, por lo que se concluye que el TBT es el agente que malogra la calidad del agua de la costa gallega hasta hacerla inadecuada para el cultivo de determinadas especies, entre ellas la ostra rizada.

Existe la posibilidad de utilizar la deformación de la concha de la ostra rizada como herramienta biomotora a escala regional. Ello permitiría, de forma relativamente sencilla y barata, hacer un mapa de la calidad del agua para la acuicultura en general y muy particularmente para esta especie.

10. PROYECTO: EMPLEO DE MICROCÁPSULAS EN LA ALIMENTACIÓN DE LAS DISTINTAS FASES DE CULTIVO DE MOLUSCOS BIVALVOS.

AÑO:

Comienzo del plan: 1998

Finalización del plan: 1998

OBJETIVOS:

- 1- Fabricación y seguimiento experimental de las microcápsulas de gelatina-acacia de distintos tamaños para las fases de larvas, postlarvas - semilla y acondicionamiento de progenitores para el cultivo de moluscos bivalvos.
 - 1.1- Seguimientos de viabilidad de las microcápsulas a lo largo de un periodo de almacenamiento, que si es posible, ha de coincidir con el desarrollo larvario del cultivo (aproximadamente un mes).
 - 1.2- Comprobación de su calidad nutritiva realizando pruebas de ingestión, digestión y asimilación de su contenido que en el caso de las partículas de gelatina – acacia, conlleva el estudio de la incorporación de los ácidos grasos de los lípidos encapsulados, en las fracciones de lípidos de reserva y estructurales de las larvas.
- 2- Incorporación de distintos compuestos para mejorar dicho cultivo, así como la fabricación de otras posibles microcápsulas o micropartículas de distinta naturaleza, en este caso, de pared de proteína.
- 3- Utilización de las microcápsulas para el estudio de las necesidades nutritivas de los moluscos.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.

Centro: Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo.

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Susana.

Apellidos: Novoa Vázquez.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Las experiencias que se realizan en éste estudio se llevan a cabo en las instalaciones del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo y en el Centro de Experimentación de Couso, de la Consellería de Pesca de la Xunta de Galicia.

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

Metodología:

Inicialmente se procede a la fabricación de las microcápsulas. Las microcápsulas de gelatina – acacia se fabrican siguiendo el método de Langdon y Waldock con las modificaciones descritas por Rodríguez y cuya técnica es puesta a punto en el Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo. Para poder demostrar la ingestión y digestión de éstas microcápsulas, se fabrican y se marcan con un colorante de cubierta. Así mismo, para comprobar su asimilación, se fabrican unas microcápsulas por el método mencionado anteriormente pero con ácido oleico y ácido araquidónico deuterado en las proporciones 90:10.

Para la fabricación de microcápsulas de pared de proteína se sigue el método de Langdon en el Centro de Experimentación en Acuicultura de Couso.

Para testar las microcápsulas se realizan cuatro experiencias con larvas de almeja fina (*Ruditapes decussata*) y almeja babosa (*Tapes pullastra*) en la planta del Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo.

La *prueba 1*, prueba con una duración de 24 horas, se pretende demostrar la asimilación de las microcápsulas. Se utilizan dos matraces de cristal de 6 l de capacidad en los que se introducen 30.000 larvas de almeja babosa. A las larvas del primer matraz se les somete a ayuno total durante 24 horas mientras que a las del segundo matraz, se les adicionan 60 equivalentes de microcápsulas, dejándolas 12 horas con alimentación y las restantes 12 horas en ayunas. Pasadas las 24 horas, se recogen las larvas de ambos matraces para ser analizadas.

La *prueba 2* es una prueba de verificación de la asimilación consistente en dos cultivos de larvas de almeja babosa. Se parte de larvas de almeja de dos puestas diferentes, repartiendo cada puesta en dos tanques de 150 l de capacidad, conteniendo cada tanque 600.000 larvas. Un tanque de cada puesta se somete a una alimentación normal de 80 equivalentes de mezcla de microalgas y en el otro, las larvas son alimentadas con 75 equivalentes de esta mezcla, más 5 equivalentes de las microcápsulas. La prueba dura 7 días y se toman muestras para controlar su talla y análisis de ácidos grasos.

En la *prueba 3*, que tiene una duración de 51 días, se lleva a cabo un desarrollo larvario y postlarvario de almeja babosa en tanques de 250 l. Las larvas se comienzan a alimentar a las 24 horas con 40 equivalentes de *Isochrysis sp.* y *Paulova lutheri* (1:1). A los 6 días comienza la experiencia con tres dietas diferentes por lo que 3.412.000 larvas se dividen en 6 tanques de 250 l. Dos de los tanques son alimentados con la dieta estándar, otros dos con la mitad de ésta y los dos restantes con la mitad del fitoplancton suplementada con las microcápsulas de aceite de hígado de bacalao, en una proporción de 1/20 del fitoplancton estándar. Se toman muestras para controlar tamaños, pesos, mortalidades, análisis de la composición bioquímica mayoritaria y analítica de ácidos grasos.

En la *prueba 4* se lleva a cabo la misma experiencia que en la prueba 3 pero en este caso utilizando almeja fina. A los 8 días se reparten 7.635.000 larvas en 6 tanques de 500 litros. El seguimiento se realiza durante 63 días, la única diferencia con la prueba 3 es que se aumenta la proporción de la dieta con microcápsulas a ¼ de la ración normal de fitoplancton. Se toman muestras para controlar tamaños, pesos, mortalidades y para hacer analíticas bioquímicas y de ácidos grasos.

Se toman muestras de la mezcla de fitoplancton utilizada en la alimentación con y sin microcápsulas, de los aceites incorporados en las microcápsulas una vez fabricadas y después de un mes de almacenamiento; y por último, de las larvas y semillas utilizadas en las diferentes experiencias.

Resultados:

Tras diferentes ensayos con microcápsulas de gelatina – acacia, se obtienen unos resultados que permiten la fabricación de microcápsulas lipídicas con un diámetro medio de 2 a 5 micras. Las más pequeñas (2-3 micras) son las que incorporan aceite de sardina y las mayores (5 micras) son los microencapsulados de aceite de hígado de bacalao. Al ser el aceite de hígado de bacalao el que incorpora una mayor cantidad de lípidos, es el utilizado para fabricar las microcápsulas con las que se realizan las experiencias con los desarrollos larvarios. La ingestión de las microcápsulas de gelatina – acuosa se comprueba por observación de las larvas por microscopía de fluorescencia, observándose la fluorescencia en el interior de la larva. Se comprueba la digestión que realizan las larvas por desaparición de la fluorescencia una vez digeridas. En cuanto a la asimilación de las microcápsulas, se comprueba con éxito la incorporación de los dos ácidos grasos (ácido oleico y araquidónico deuterado) que aparecen en las microcapsulas.

Prueba 1

Se observa como las larvas que no son alimentadas durante 24 horas no poseen ácido araquidónico deuterado, que sí existe en las que son expuestas a las microcápsulas durante 12 horas y, el ácido oleico, también aparece en mayor proporción en estas últimas, por lo tanto se puede concluir que en este experimento sí existe asimilación, observable tanto en la fracción de lípidos neutros como polares, pero parece mayor en los de reserva o neutros. En los porcentajes, parece que las larvas que se alimentan con microcápsulas no presentan este aumento en los lípidos estructurales pero sí en los neutros.

Prueba 2

En esta prueba la mortalidad es inexistente, tanto en una dieta como en la otra, por lo tanto las microcápsulas no afectan al cultivo. En cuanto al crecimiento, se observa que tampoco existen diferencias significativas durante este periodo. Analizadas las larvas, la asimilación del ácido araquidónico deuterado se muestra mayor en los lípidos polares, por el contrario, el ácido oleico muestra unos valores más elevados en los neutros, pero en los dos casos así como en los ácidos grasos totales de ambas fracciones, las larvas que son alimentadas con 5 equivalentes de microcápsulas poseen mayor porcentaje y más ngr/larva de estos ácidos grasos. Se observa sobretodo, que el contenido del ácido graso deuterado en estas larvas aumenta de forma progresiva hasta el día 4 y, a partir de este momento, su cantidad en ngr/larva se estanca como si existiese una saturación en la asimilación.

Las asimilaciones del ácido araquidónico deuterado son halladas, en la prueba 1, con los datos de mgr/larva obtenidos en las larvas sometidas a ayuno y en las que fueron alimentadas con microcápsulas durante 12 horas. Las asimilaciones halladas en la prueba 2, utilizan las diferencias en ngr/larva de las larvas al 2º y al 4º día, siendo los resultados de asimilación con fitoplancton + microcápsulas de 17,1 y los de únicamente con fitoplancton, de 14,9, por lo tanto, la diferencia que existe entre los dos, es aproximadamente el valor obtenido cuando se calcula la asimilación de este ácido grado en la experiencia de 24 horas con la dieta exclusiva de microcápsulas (3,6). La asimilación del ácido araquidónico deuterado es bastante similar en las dos pruebas, verificándose aún más la efectividad de las microcápsulas.

Para la fabricación de **microcápsulas de pared de proteína**, se utiliza como proteína la caseína a la que también se le pueden añadir carbohidratos como la sucrosa o dextrina. Se obtienen microcápsulas de entre 20-30 μm , que aguantan bien la liofilización para poder ser almacenadas hasta su utilización en cultivos a gran escala.

En la *prueba 3* con almeja babosa, se disminuye la dosis de microcápsulas a la mitad (1/20 de los equivalentes de fitoplancton). Las distintas dietas se comienzan a suministrar a los 6 días del cultivo y hasta los 22 no se observan diferencias significativas en los crecimientos siendo más evidentes a los 51 días. Parece que crecen más las que son alimentadas sólo con fitoplancton, aunque los datos no muestran divergencias muy significativas.

Los porcentajes de los lípidos neutros y polares son similares en las dos dietas diferentes, destacando un aumento en los lípidos estructurales (polares) en las larvas alimentadas con microcápsulas, 33,21%, frente a las que se alimentan sólo con fitoplancton, 24,65%, a los 22 días de cultivo.

No se aprecian diferencias en las dos dietas respecto a los porcentajes de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de las dos fracciones de lípidos polares y lípidos neutros.

Las mayores diferencias respecto a lípidos neutros y polares y ácidos grasos totales, entre las dos dietas, se observan a los 22 días del comienzo de la prueba. Mientras que en el 18:0 y 22:6 (n-3) se obtiene un aumento de los lípidos neutros en las larvas alimentadas con microcápsulas (4,14% y 11,04% respectivamente), en el 18:1 (n-9) y 20:1(n-9) este aumento le corresponde tanto a los lípidos polares como neutros y en este último ácido graso este valor superior continua hasta los 51 días. En el 20:5 (n-3) no se aprecian valores a destacar.

La *prueba 4* se realiza con *Ruditapes decussata* y una suplementación mayor en microcápsulas (1/4 de la dosis estándar de fitoplancton). Dados los resultados obtenidos en la prueba 3, se intenta verificar las diferencias existentes en los lípidos estructurales (lípidos polares) al utilizar la alimentación mixta a base de fitoplancton y microcápsulas. Para ello, no sólo se analizan las larvas sometidas a dieta tradicional con fitoplancton y las que crecen con la dieta a base de una dosis mayor de microcápsulas, sino que también se analizan las que son alimentadas sólo con la mitad de las microalgas para poder corroborar dichos aumentos provocados por las microcápsulas de gelatina – acacia. Se observa como, entre las larvas que comen la totalidad de fitoplancton considerado como estándar en un cultivo y las que sólo son alimentadas con la mitad, no existen diferencias significativas destacables salvo en el día 63 en que parece que crecieron más las que comieron todo el fitoplancton.

Las larvas con una alimentación mixta (1/2 fito + 1/4 microcápsulas) parece que presentan un pequeño aumento de crecimiento con respecto a las otras dos dietas, entre el día 20 y el 33. Se trata de un ligero aumento que tiene lugar a partir de la metamorfosis, pero las proliferaciones bacterianas provocadas por el aumento de dosis de las microcápsulas, hacen que su mortalidad vaya también aumentando hasta que es total a los 42 días.

Las microcápsulas también parecen provocar un aumento de los lípidos polares o estructurales, pasando de un 16,6% encontrado en la dieta estándar a un 21,8% en la dieta mixta. Parece que este aumento es aún mayor, 38,3%, si a las larvas sólo se les alimenta con la mitad de la dieta a base de fitoplancton, sin suplementar las microcápsulas. Lo que en esta prueba resulta evidente, es que el aceite de hígado de bacalao encapsulado va a hacer que los lípidos neutros (de

reserva) no caigan al dejar de aportar la totalidad del fitoplancton (78,2% en la dieta mixta y 83,4% en la dieta normal), sino que más o menos se mantiene en contraposición con lo que ocurre en las larvas a las que es suministrada la mitad (61,7%, ½ de fitoplancton). Las diferencias halladas son después de la metamorfosis (día 33).

A nivel de lípidos neutros es donde se obtienen las mayores diferencias entre las dietas, siendo las microcápsulas las que, en el día 33, los datos en todos los tipos de ácidos grasos se mantienen relacionados con los de la alimentación tradicional. Sin embargo, las que sólo son alimentadas con la mitad de fitoplancton, sufren una caída alta de ácidos grasos monoinsaturados o incluso poliinsaturados, pero se elevan los saturados.

Las microcápsulas no provocan excesivos cambios en los porcentajes de los ácidos grasos 18:0, 18:1 (n-9), 20:1 (n-9) y 20:5 (n-3), quizá solamente un ligerísimo aumento de los lípidos neutros y en el 18:0 también en los polares que, en todo caso, es superado por las larvas alimentadas con la mitad de fitoplancton. En el 22:6 (n-3), su porcentaje tanto en lípidos polares como neutros es igual en larvas que son alimentadas con la dieta estándar y con la dieta mixta, en contraposición con la caída que supone la falta de microcápsulas, en las que únicamente comen la mitad del fitoplancton.

Conclusiones:

Comprobada la ingestión, digestión y asimilación de las microcápsulas de gelatina – acacia queda demostrada su viabilidad para ser utilizadas en la alimentación de moluscos bivalvos. No sólo son empleadas para el estudio de las necesidades nutritivas de estos organismos y la esenciabilidad de algunos compuestos de ácidos grasos, sino que pueden sustituir a la alimentación estándar (con fitoplancton) en sus cultivos y desarrollos larvarios.

También se consiguen microcápsulas con pared de proteína, que llegan a incorporar carbohidratos. Su tamaño es algo mayor (20-30 µm), lo que no las excluye para ser utilizadas por la semilla de moluscos puesto que su gran interés estriba en la posible incorporación de sustancias hidrosolubles y liposolubles.

El coste de fabricación de estos dos tipos de microcápsulas, las hacen rentables a la hora de ser utilizadas como alimento inerte sustituto de alimento vivo o fitoplancton.

COMENTARIOS FINALES.

Aceites de distinta naturaleza son encapsulados con gelatina – acacia y las microcápsulas resultantes son testadas para verificar su estabilidad a lo largo de un mes de almacenamiento. Utilizadas en la alimentación de desarrollos larvarios de almeja fina y babosa, se comprueba su viabilidad como alimento, no siendo nocivas ni tóxicas, y se demuestra que su contenido lipídico es incorporado al metabolismo de estos organismos. Por lo tanto, estas pruebas realizadas dan resultados positivos sobre su ingestión, digestión y asimilación.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Al VII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Mayo de 1999 en Las Palmas de Gran Canaria se presentaron los siguientes trabajos:

“Fabricación de microcápsulas a partir de aceites naturales (atún, caballa, bacalao y sardina) para su empleo como suplemento lipídico nutricional en los cultivos larvarios de almeja”.

“Ensayos de laboratorio para la obtención de microcápsulas destinadas a la alimentación de moluscos bivalvos”.

Al VIII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Santander se presenta el trabajo “Asimilación de microcápsulas de gelatina – acacia incorporando ácido araquidónico deuterado en aceite de oliva por larvas de almeja babosa (*Tapes pullastra*)”.

Publicaciones en colaboración con el equipo investigador del IFREMER de Brest y la Facultad de Veterinaria de Lugo:

“Fabricación y asimilación de las microcápsulas de gelatina – acacia con ácido oleico y ácido araquidónico deuterado”.

“Composición en ácidos grasos a lo largo de los desarrollos larvarios de *Ruditapes decussata* y *Tapes pullastra*”.

11. PROYECTO: DIAGNÓSTICO DE CALIDAD Y PROCEDIMIENTOS DE MANEJO DE SEMILLA DE ALMEJA FINA (*Ruditapes decussatus*) Y OSTRA PLANA

AÑO:

Comienzo del plan: 1998
Finalización del plan: 1998

OBJETIVOS:

Entendiendo como nivel de resistencia biológica aquel que permite el inicio del cultivo de semilla de almeja fina y ostra plana, en sistemas sobreelevados de la franja intermareal, con mortalidades mínimas, los objetivos del presente proyecto son:

- Delimitación del grado de disminución de la resistencia biológica debido a la calidad inicial y procedimientos de manejo de la semilla.
- Desarrollo de técnicas de diagnóstico sencillas y ejecutables en el espacio de tiempo que implica el proceso. Búsqueda de vías alternativas.
- Elaboración de contramedidas de recuperación.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.
Centro: Centro de Investigaciones Marinas de Corón (CIMA).

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Montserrat.
Apellidos: Martínez Morán.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

La experiencia de cultivo se desarrolla en las instalaciones del Centro de Investigaciones Marinas de Corón, en Vilanova de Arousa.

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

Metodología:

Se realizan tres pruebas para comprobar la relación existente entre la velocidad de formación de biso (órgano de fijación del individuo al sustrato) en la semilla de almeja fina, y los resultados posteriores de supervivencia de la semilla ante determinadas condiciones previas al manejo.

La **primera prueba** comienza el 10 de abril de 1998 con una partida de almeja fina de talla y peso inicial de 9,86 mm y 203 mg procedente de un criadero industrial. El número total de individuos es de 270.

Estos 270 individuos se distribuyen en 9 submuestras de 30 individuos cada una. La primera submuestra o muestra estándar, A-1, se coloca en un acuario de circuito cerrado de agua a temperatura de 13 °C y salinidad de 28 g/l. El resto de las submuestras se someten, previamente a su inmersión en el acuario, a condiciones desfavorables con la finalidad de disminuir su grado de resistencia. Así, las submuestras A2 y A3 permanecen uno y dos días en seco, respectivamente, en una cámara frigorífica a una temperatura de 13 °C. Las submuestras A4 y A5 permanecen uno y dos días en seco, a la misma temperatura pero en condiciones de humedad. A6 y A7 permanecen respectivamente uno y dos días en seco en una estufa a una temperatura de 34 °C y, por último, las submuestras A8 y A9 permanecen uno y dos días en la misma estufa pero en condiciones de humedad.

Los muestreos de las diferentes submuestras se realizan cada 24 horas obteniéndose el porcentaje de mortalidad y estimándose el grado de formación del biso.

El día 15 de abril de 1998 comienza la segunda prueba con una partida de 150 individuos de almeja fina de 4,48 mm de talla inicial y 21 mg de peso inicial. Se distribuyen el total de individuos en submuestras de 30 almejas finas cada una. La submuestra blanco, A1, se coloca directamente en el acuario estándar con agua en circuito cerrado a 13 °C y 28 g/l de salinidad. El resto de las submuestras se someten a condiciones desfavorables previamente a su inmersión en el acuario. Las submuestras A2 y A3 permanecen uno y dos días en seco en una cámara frigorífica a 13 °C, mientras que las submuestras A4 y A5 permanecen en seco en una estufa a 24 °C uno y dos días respectivamente. Los muestreos se realizan al cabo de 1, 7, 10 y 22 horas tras la inmersión en el acuario de las diferentes submuestras, obteniéndose en cada uno de los muestreos el grado de formación de biso.

El 22 de junio de 1998 comienza la **última prueba** en la que participan un total de 660 individuos de 7,18 mm de talla inicial, 81 mg de peso inicial y un índice de condición de 22,28. A los 660 individuos de almeja fina se les elimina el biso y se distribuyen en submuestras de 100 individuos cada una. La submuestra A1 no se somete a condiciones previas desfavorables, colocándose en el acuario estándar (15 °C y 32 g/l de salinidad). Las submuestras A2 y A3 permanecen uno y dos días en seco respectivamente, en estufa a 25 °C antes de su inmersión en el acuario. Los muestreos de las submuestras A1, A2 y A3 se realizan al cabo de 1, 2, 3, 8 y 16 horas de la inmersión en el acuario, obteniéndose el porcentaje de formación del biso. El porcentaje de mortalidad se determina a las 24, 48 y 72 horas de la inmersión de las almejas en el acuario. Todo el proceso se realiza por duplicado.

Resultados:

En la siguiente tabla se reflejan los porcentajes de formación de biso y mortalidad de cada una de las submuestras de la prueba 1:

	24 horas		48 horas		72 horas		96 horas		120 horas	
	F. B.	M	F. B.	M	F. B.	M	F. B.	M	F. B.	M
A-1	+ abund.	0	+ abund.	10	Abund.	10	+ abund.	10	+ abund.	10
A-2	+ abund.	0	Abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0
A-3	+ abund.	0	Abund.	0	Ausencia	0	Poco abund	0		
A-4	+ abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0	Abund.	0
A-5	+ abund.	0	Abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0		
A-6	Ausencia	26,67	Ausencia	46,67	Ausencia	66,67	Ausencia	100		
A-7	Ausencia	100								
A-8	+ abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0	+ abund.	0	+abnd.	0
A-9	Abund.	0	Poco abund	6,67	Poco abund	16,67	Poco abund	20		

Siendo:

F.B: Porcentaje de formación del biso.

M: Porcentaje de mortalidad.

En los resultados obtenidos se ve la relación existente entre las condiciones previas a que se somete a la semilla y los resultados posteriores de mortalidad. También se observa la relación entre las condiciones previas y el porcentaje de formación del biso.

El grado de formación del biso de los ejemplares de la prueba dos, aparece en la siguiente tabla:

	7 horas	22 horas
A-1	Muy abundante	Muy abundante
A-2	Abundante	Muy abundante
A-3	Ausencia	Ausencia
A-4	Poco abundante	Muy abundante
A-5	Ausencia	Ausencia

Las almejas de las submuestras A-1, A-2 y A-4, sometidas a condiciones previas más favorables, consiguen todas un grado alto de formación de biso, estando la velocidad de formación en relación directa con las condiciones previas.

La velocidad de formación de biso de las almejas de la submuestra A-1 de la prueba 3, que no pasan por un periodo previo de desecación, es mayor que en el resto, estando el 10% de las almejas con biso a la hora de su colocación en el acuario y el 70% transcurridas 16 horas. Por otro lado, las almejas A-2 de la prueba 3, que permanecen en seco 24 horas, durante la primera hora no han comenzado a formar el biso y tienen, a las 16 horas de su colocación en el acuario, un porcentaje de formación de biso del 43,33%. Por último, las almejas de la submuestra A-3, que permanecen en seco 48 horas, no logran formar biso a las 16 horas. Existe también una relación directa entre el porcentaje de mortalidad y las condiciones previas, así, en la submuestra A-1, no se aprecia mortalidad, mientras que en las otras dos submuestras, el porcentaje es mayor cuanto más desfavorables son las condiciones previas a las que han sido sometidas.

Conclusiones:

Dada la velocidad del proceso de formación de biso, observable ya en la primera hora de reinmersión de la almeja, y la relación de este comportamiento con el estado fisiológico del individuo y que, por lo tanto, está en relación con el porcentaje posterior de supervivencia, es posible diseñar un test sencillo y rápido para diagnóstico de la calidad inicial de la semilla.

COMENTARIOS FINALES.

La semilla de almeja fina, desprovista de biso previamente, lo produce en un periodo de tiempo muy breve, inferior a 24 horas. Esta capacidad de formación de biso se encuentra relacionada con las condiciones previas a las que se ve sometida la semilla. Las condiciones previas afectan a su vez a la fisiología de los moluscos, llegando a provocar mortalidades elevadas en los primeros días de preengorde.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Trabajo presentado al VII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Las Palmas de Gran Canaria en 1999 con el nombre "La formación de biso como indicador de calidad de semilla de moluscos bivalvos. 1^{as} experiencias con almeja fina, *Ruditapes decussatus*".

12. PROYECTO: MÉTODOS DE MEJORA DEL RECLUTAMIENTO DE LAS ESPECIES COMERCIALES DE MOLUSCOS BIVALVOS EN LA ZONA INTERMAREAL DE LAS RÍAS GALLEGAS

AÑO:

Comienzo del plan: 1998

Finalización del plan: 1998

OBJETIVOS:

- A- Delimitación de los factores que influyen en el reclutamiento de las especies almeja fina (*T. decussata*), almeja babosa (*T. pullastra*), almeja japónica (*R. philippinarum*) y almeja bicuda (*V. aurea*) atendiendo a las siguientes cuestiones:
- Stock de reproductores cercano.
 - Stock larvario de cada especie.
 - Tipo de corrientes.
 - Tipo de sustrato.
- B- Desarrollo de técnicas de preservación de depredadores, mediante la utilización de métodos de protección del reclutamiento como mallas, etc y técnicas de mejora de la fijación inicial, mediante ruptura de corrientes de agua y acondicionamiento de sustratos adecuados.
- C- Control de los efectos de las artes de extracción más usadas dentro del marisqueo a pie: sachó, ganchelo, rastrillo, raño, horquilla sobre los nuevos reclutamientos, analizando su efectividad y mayor o menor incidencia sobre la supervivencia de las poblaciones de las diferentes especies.
- D- Obtención de puestas en laboratorio, controlando las larvas de las distintas especies y realizando pruebas de fijación en sustratos diferentes.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.

Centro: Centro de Investigaciones Marinas de Corón (CIMA).

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Antonio.

Apellidos: García Fernández.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Para la realización de los trabajos de campo del presente proyecto, se eligen tres zonas diferentes de la Ría de Arousa. Una primera zona esta ubicada en la localidad de O Grove, que se encuentra situada en la boca de la ría. La segunda zona se encuentra en la zona media, en las playas de Vilanova de Arousa. Por último, la tercera se sitúa en Vilaxoán, en una zona cercana al inicio de la ría.

Los ensayos de laboratorio se realizan en las instalaciones del Centro de Experimentación en Acuicultura de Couso.

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

Metodología; Dinámica de poblaciones de almeja fina de fijación natural:

Se realizan muestreos en seis zonas de la Ría de Arousa.

En la banda Sur de la Ría se eligen cuatro zonas. Dos zonas de la playa del Rial en Vilaxoán: zona B con nivel mareal superior a 0,5 m sobre la bajamar escorada y otra zona A con nivel mareal inferior. Las otras dos zonas son la playa de Borreiros en Vilaxoán y la playa de O Castelete en Vilanova de Arousa. Se muestran dos playas de la banda Norte, Raposiños y Os Areos, situadas en Riveira.

Todas las zonas están sujetas a explotación. También se establecen parques reservados libres de explotación, para detectar nuevas fijaciones y seguir su evolución en la zona B de Vilaxoán.

El diseño del muestreo es del tipo sistemático estratificado. La extracción de las muestras se realiza con calicata 40x40, de la que se reserva la porción más superficial (5-8 cm) tamizándose por malla de 1 mm de lado y extrayendo los individuos de menor tamaño. El resto de la muestra se extrae en la propia playa. Para las zonas de captación de la fijación, se usa una calicata de 20x20 mm. Una vez separados, se obtiene la longitud y el peso correspondiente. También se extrae una submuestra de 50 individuos para obtener por desviscerado el peso de la carne y de la concha. Se estima la densidad en individuos / m², así como el número de muertos con conchas unidas recientes para hacer una estimación de la mortalidad.

Una vez obtenidos estos datos se realizan distribuciones de talla y población, mediante ajuste a una distribución normal y observación de los anillos de crecimiento, separándose las distintas clases de edad, de las que se obtiene una longitud media con un límite de confianza del 95%. Se calculan las tasas de crecimiento G-30, el índice de condición, se sigue el proceso de maduración mediante la técnica de frotis y se obtiene la mortalidad como porcentaje entre conchas unidas recientes y total de individuos muestreados.

Resultados; Dinámica de poblaciones de almeja fina de fijación natural:

Para la elaboración de los datos de crecimiento, se toma como fecha de fijación el 1 de junio. Se constata la aparición de la fijación de finales de primavera y principios de verano en Agosto, tanto para la clase del año 1997 como la del 1998, con una talla que se sitúa entre 2,5 y 3 mm. En la siguiente tabla se muestra la evolución de la talla media y la tasa de crecimiento G-30 para la almeja fina:

Años	0,5	1	1,5	2	2,5
Lmm	7,38	11,51	24,41	31,73	39,46
G-30	66,37	7,31	12,36	4,31	3,58

A los 2,5 años comienza la actividad marisquera sobre esta población, debido a que una parte de sus individuos ya alcanzan la talla legal de extracción, produciéndose por tanto una subestimación de su crecimiento.

Se establece la relación talla – peso de los individuos mediante la ecuación potencial:

$$PF = 0,022412 \times L \text{ (mm)}^{2,99845} \quad n = 250 \text{ y } R = 0,998$$

Según ésta ecuación, para la talla legal de la almeja fina (40 mm) se obtiene un peso de 14,3 gramos. El rendimiento en carne se sitúa entre el 25 y el 35%, siendo el máximo en primavera y el mínimo en invierno.

En la evolución del índice de condición, aparecen claramente diferenciados los periodos de parada invernal y época de puesta (entre abril y mayo).

En enero de 1998, el 100% de los individuos estudiados no han comenzado el proceso de maduración. En el mes de marzo comienzan a aparecer los primeros individuos diferenciados, siendo mayor la proporción de machos que de hembras. El máximo de individuos diferenciados se produce en mayo, con unos porcentajes de 40,5% de machos, 38,1% de hembras y 21,4% de indiferenciados. El julio aumenta el porcentaje de individuos no maduros y, a principios de octubre, el porcentaje de indeterminados alcanza el 90%, habiendo terminado ya el proceso de maduración. No se encuentran individuos diferenciados por debajo de 17-18 mm.

En la siguiente tabla se muestra el reclutamiento en Ind / m² en las diferentes playas estudiadas en la Ría de Arousa:

	Rial B	Fix BB	Rial A	Castelete	Borreiros	Raposiños	Areos
Octubre 1997	507,0	400,0	356,9	19,2	171,4	25,5	8,1
Octubre 1998	10,4	300				21	

Se produce una gran variabilidad entre la fijación de los años 1997 y 1998. En el año 1997 aparecen una gran cantidad de individuos de nueva generación en la zona del Rial, encontrándose en el mes de octubre cantidades de hasta 500 ind/m². En la zona contigua de Borreiros también se presenta una importante fijación. Por el contrario, otras zonas cercanas como el Castelete tienen una fijación mucho menor. Las zonas pertenecientes a la banda norte de la Ría presentan así mismo valores más bajos.

En 1998 la fijación es inferior en todas las zonas estudiadas, destacando sobremanera la drástica disminución que se produce en el Rial B, con un número de 10 ind/m² y 30 ind/m² en la zona controlada de fijación. Las diferencias se explican debido a que en 1997 existe un gran stock de reproductores adultos, en la playa de Rial, procedentes de una siembra efectuada con almeja de hatchery, lo que pone de manifiesto la importancia de realizar trabajos de mejora de explotación con acondicionamiento de sustratos, siembras, etc.

La máxima mortalidad se sitúa entre el 30 y el 60% durante el invierno de 1997, debido al descenso de la salinidad del agua. En el resto del periodo anual la mortalidad varía entre el 5 y el 15%, siendo más alta en primavera y a principios de verano. Se dan valores más altos en Castelete, debido a que es una zona de gran acumulación de algas.

Conclusiones; Dinámica de poblaciones de almeja fina de fijación natural:

La almeja fina, *R. decussatus*, alcanza la talla legal de extracción a partir de los dos años y medio desde su fijación, coincidiendo con el final del tercer verano de existencia.

El nivel mareal, el tipo de sustrato y las condiciones oceanográficas influyen de forma decisiva sobre el crecimiento, puesto que un bajo nivel mareal, un sustrato excesivamente compacto y una deficiente circulación de agua pueden retardar el crecimiento.

Metodología; Crecimiento de poblaciones naturales de almeja japonesa:

Las zonas de asentamiento de las poblaciones de almeja japonesa muestreadas dentro de la franja intermareal son tres, el Esteiro del Rial (tres subzonas, A situada a 0,5 m sobre bajamar escorada, la B de 1,5 m y la C de 2,0 m), la playa de Borreiros y la playa de Corón.

El diseño del muestreo es de tipo sistemático estratificado. Cada zona que se muestrea supone la realización de un número de puntos (entre 10 y 25). A cada punto se le aplica una calicata de 40x40x15 cm, extrayendo todos los individuos y la parte superior (10 cm) del sustrato para garantizar la extracción de juveniles. Se determinan los parámetros bio-gravimétricos individuales, longitud y peso fresco. Del total de individuos capturados de cada muestra se analiza una fracción (n = 30) aleatoria de individuos para el cálculo del índice de condición instantáneo.

Se realizan un total de 18 muestreos. La separación de clases de edad y cohortes se realiza ajustando la distribución de clase de edad a una distribución normal, complementando estos resultados con la revisión de anillos de paralización de crecimiento y el seguimiento del desplazamiento de estas distribuciones de talla en los diversos muestreos.

Resultados; Crecimiento de poblaciones naturales de almeja japonesa:

La fijación se detecta a mediados de Agosto, encontrándose tallas de cría de 3-5 mm. Estos individuos se sitúan en el mes de noviembre entorno a los 10 mm. El reclutamiento presenta, dependiendo de las condiciones ambientales, uno o dos cohortes diferenciados.

En la siguiente tabla se muestra la densidad de reclutamiento de las diversas clases de edad y zonas en ind/m²:

Zona	Clase edad	Ind / m ²
Rial A	C-97	156,3
	C-98	47,5
Rial B	C-97	39,6
	C-98	26,3
Rial C	C-97	16,7
Borreiros	C-97	24,2
Corón	C-97	22,7

Se aprecia una diferencia estadística significativa entre las tres zonas de Rial, diferencia relacionada con el nivel mareal de cada zona. La sub-zona A es la que presenta mejor crecimiento siendo la sub-zona C la que con diferencia presenta el peor crecimiento. En Borreiros y Corón se dan crecimientos semejantes a la sub-zona A del Rial.

La tasa media de crecimiento mensual G-30, entre los 0,5 y 1,5 años, para la zona intermareal de +0,5 metros, se sitúa en 10,9 y para +1,5 metros en 9,94.

La relación talla – peso fresco viene determinada por la ecuación potencial:

$$PEE \text{ (gr)} = 0,01244 \times L \text{ (mm)}^{3,1643} \quad n = 150 \text{ y } R = 0,997$$

De acuerdo con esta relación, la almeja japonesa alcanza a los 40 mm (talla legal) un valor de 14,6 gramos.

El Índice de Condición presenta una variación estacional, alcanzando un valor mínimo de 19,1% de carne sobre peso total en enero de 1998 y un valor máximo en julio de 1998 de 35,5%, fecha en que se inicia la principal puesta del año.

Conclusiones; Crecimiento de poblaciones naturales de almeja japonesa:

Dada la tasa de crecimiento de los primeros meses de vida de *R. philippinarum* y la evolución del I.C., el inicio de la puesta se debe dar a principios de verano. A efectos de estandarizar los días de vida de las diversas clases de edad, se supone el inicio de puesta igual en todas las clases de edad y corresponde al 1 de julio.

En el caso más favorable, la almeja japonesa alcanza la talla legal a los 18 meses y en el menos favorable, precisa de 26 meses para alcanzar la talla legal.

Metodología; Dinámica de poblaciones naturales de almeja babosa:

Durante el periodo de investigación se realizan un total de 53 muestreos de almeja babosa. Las zonas de estudio son las zonas submareales de Borreiros, Vilaxoán, Castelete, Vilanova de Arousa, Insua y Riveira y las zonas intermareales de Borreiros, Vilaxoán, Raposiños, Pobra do Caramiñal y Rial.

El diseño del muestreo es del tipo sistemático estratificado. La obtención de muestras, tanto en las zonas sumergidas como en las intermareales, se realiza por la extracción con calicata mediante buceo y con raños modificados, la misma calicata se usa en intermareal. Se emplean calicatas de aluminio de 40x40x15 cm, con una superficie de muestreo de 0,16 m². En cada punto se extrae una capa superficial de sedimento y todo el material biológico encontrado; también se recogen las conchas recientes de almeja con valvas unidas. La superficie extraída (m²) se estima después de varias mediciones en profundidad, estableciendo una relación entre el tiempo de rañada y la superficie recorrida.

Del total de individuos extraídos se estima la densidad, se determinan los parámetros bio-gravimétricos de longitud y peso fresco individual. Se determina el índice de condición instantáneo en una submuestra de 30 individuos. El estado de maduración se evalúa mediante frotis de 534 individuos con tallas comprendidas entre los 10 y 55 mm. La separación de clases de edad se realiza previa selección de intervalos de talla, y ajuste posterior a una distribución normal, mediante la observación de anillos de crecimiento. La mortalidad en porcentaje se obtiene de la relación entre las conchas recientes unidas y la totalidad de individuos muestreados, y por último, la tasa de crecimiento (G30 anual) se calcula en base a la expresión:

$$G = 30 \times 100 [\ln (L_f) - \ln (L_i)] / N^\circ \text{ de días.}$$

Resultados; Dinámica de poblaciones naturales de almeja babosa:

La población formada por individuos de L>30 mm presenta durante todo el año un porcentaje de individuos maduros superior al 80%, concentrándose la época de máxima madurez entre los meses de abril a junio y la de mínima madurez entre agosto y septiembre, pudiéndose acortar o alargar estos periodos en función de las condiciones ambientales. No se detectan individuos maduros con una talla menor de 14,7 mm en machos y 16,3 mm en hembras.

La mayor densidad de reclutamiento se detecta en la zona intermareal de El Rial con 396,66 ind/m² y la menor densidad de reclutamiento se detecta en la también zona intermareal de Raposiños con 60,83 ind/m².

La clase anual de almeja babosa en sumergido, para las zonas no explotadas, alcanza en su primer año de vida los 38,4±0,7-41,8±1,1 mm y en su segundo año 48,3±1,1-51,9±2,6 mm, registrándose un retraso de uno o dos meses para las zonas intermareales.

Las tasas de crecimiento (G-30 anual) que se observan para la clase de edad de un año, oscilan entre 12,25 y 14,82, y para la clase de dos años entre 1,32 y 2,19.

La relación talla – peso fresco viene determinada por la ecuación:

$$P_f(g) = 0,01101 \times L^{3,10461}(\text{mm}) \quad (n=1000) \quad (R = 0,995),$$

Resultando para la talla legal de 38 mm, un valor de 8,84 gr.

La variación de los índices de condición de las diferentes clases de edad varían según la estación, descendiendo en invierno. Se presentan I.C. más elevados para las clases de mayor edad submareales, seguidas por las intermareales.

La mortalidad que se registra por muestreo varía entre el 2 y el 65%, siendo más elevada en los meses de mayo – julio para las zonas submareales, época de reclutamiento y desarrollo de tapices de algas que favorecen ambientes reductores.

Conclusiones; Dinámica de poblaciones naturales de almeja babosa:

Dependiendo de la composición relativa de cohortes / clases de edad y de las condiciones ambientales, resulta un porcentaje global de maduración de la población. Se detectan varias puestas anuales en las diferentes zonas.

El crecimiento anual depende del número, época y peso relativo de cada cohorte. La influencia del nivel mareal determina un mayor crecimiento en las zonas submareales que en sus homólogos intermareales, y supone un retraso en el registro de las fijaciones primaverales en estas últimas.

Metodología; Reclutamiento y crecimiento de las poblaciones naturales de almeja bicuda:

Se muestrean diversas zonas intermareales y sumergidas de la Ría de Arousa. Así mismo, se sigue el cultivo intermareal de una partida de 30.000 unidades de cría sembradas en un parque de 300 m². Los datos que se recogen en los muestreos son datos de fijación, de talla media, de tasa de crecimiento y de densidad media.

Resultados; Reclutamiento y crecimiento de las poblaciones naturales de almeja bicuda:

La fijación en el parque, con tallas de cría de entre 3 y 5 mm, se detecta en septiembre, continuando hasta abril del año siguiente, lo que indica un inicio de puesta desde mediados de verano hasta el otoño. En el mes de junio de 1998, con un año de vida, la almeja bicuda, alcanza una talla media entre 21 y 26 mm, con una tasa de crecimiento (G30) de 12,5 entre los 0,5 y 1,5 años de vida.

La talla legal se alcanza a los 9-11 meses de edad, un poco antes de iniciarse la primera puesta. En los muestreos se detectan individuos de 2 años de edad con tallas comprendidas entre los 37 y los 40 mm.

La densidad media de la población es baja, entre 11,9 y 39,9 ind/m², estando constituida en su mayor parte por individuos juveniles.

Los datos de cultivo confirman el potencial de crecimiento de ésta especie, que pasa de los 12,4 mm a los 34,3 mm en 12 meses de engorde.

Conclusiones; Reclutamiento y crecimiento de las poblaciones naturales de almeja bicuda:

A la luz de los resultados obtenidos, parece evidente que es necesario proceder a una revisión de las tallas mínimas de captura de esta especie, de modo que se pueda producir una recuperación efectiva de la población actual.

Metodología; del efecto de las artes de pesca tradicionales de marisqueo a pie “sacho” y “ganchelo” sobre el reclutamiento de los moluscos bivalvos:

El conocimiento de los efectos que sobre las fijaciones de nuevos individuos tienen las tareas de extracción de marisco, con las diferentes artes que para ello se emplean, es uno de los aspectos menos conocidos de la evolución de las poblaciones de moluscos bivalvos sometidos a explotación.

Durante finales de 1997 y el año 1998 se realizan pruebas con dos de las artes de pesca más utilizadas en el marisqueo a pie, “sacho” y “ganchelo” en la zona del Rial en Vilaxoán, Ría de Arousa.

Para la realización de la prueba, se conforman en agosto de 1997 varios parques experimentales contiguos, en uno de los cuales se utiliza el “sacho”, en otro el “ganchelo” y un tercero libre de la utilización de cualquier arte. Se realizan muestreos periódicos de fijación de almeja fina, *Tapes decussata*, al término de los cuales se procede a la utilización de las artes.

Resultados; del efecto de las artes de pesca tradicionales de marisqueo a pie “sacho” y “ganchelo” sobre el reclutamiento de los moluscos bivalvos:

En la siguiente tabla se presenta la evolución de la densidad de ind/m² para las tres zonas de estudio:

IND/M ² SEMILLA FINA PARQUE RIAL			
	Testigo	Ganchelo	Sacho
18-septiembre-97	381,2	385,0	165,0
20-octubre-97	381,2	400,0	143,8
15-diciembre-97	256,3	212,5	112,5
25-mayo-98	162,3	130,5	47,0

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas entre la zona del “ganchelo” y la testigo, presentando una evolución en ind/m² muy similar. Por el contrario, en el parque donde se trabaja con “sacho”, se produce una clara disminución del reclutamiento encontrado, situándose en torno al 30% del obtenido en las otras dos zonas. Se observa que el efecto del “sacho” se produce sobre los individuos recientemente fijados, y que la evolución posterior es básicamente la misma en los diferentes parques.

Conclusiones; del efecto de las artes de pesca tradicionales de marisqueo a pie “sacho” y “ganchelo” sobre el reclutamiento de los moluscos bivalvos:

La evolución del “ganchelo” no es significativa, presentando una evolución similar al parque no trabajado con ningún arte.

En el parque donde se trabaja con “sacho”, se produce una clara disminución del reclutamiento encontrado.

El efecto del “sacho” se produce sobre los individuos recién fijados, y la evolución posterior es similar en los diferentes parques.

COMENTARIOS FINALES.

El crecimiento de la almeja fina, *Ruditapes decussatus*, se encuentra influido por el tipo de sustrato, nivel mareal y demás condiciones oceanográficas, alcanzando normalmente la talla legal a partir del segundo año y medio de vida. La época de reproducción se sitúa al final de la primavera, principios del verano.

La almeja japonesa, *Ruditapes philippinarum*, presenta una tasa de fijación natural importante y un crecimiento rápido. Crecimiento intermedio entre la almeja babosa y la almeja fina.

La almeja babosa, *Venerupis pullastra*, presenta un proceso de maduración sexual rápido que comienza a muy corta edad. La alta tasa de crecimiento, superior a la de la almeja fina y la almeja babosa, los elevados reclutamientos registrados y una mortalidad variable, que se puede minimizar con una extracción adecuada, métodos de limpieza de algas y control de depredadores; todo ello junto a su elevada cotización en el mercado, la convierten, en una especie óptima a potenciar dentro de la acuicultura.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

Comunicaciones presentadas al VII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Mayo de 1999 en Las Palmas de Gran Canaria:

“Dinámica de poblaciones de almeja fina, *Ruditapes decussatus*, de fijación natural en diferentes zonas marisqueras intermareales de la Ría de Arousa, Galicia”.

“Primeros datos sobre el reclutamiento y el crecimiento de las poblaciones naturales de almeja japonesa, *Ruditapes philippinarum*, en la zona de Vilaxoán, Ría de Arousa, Galicia”.

“Dinámica de poblaciones naturales de almeja babosa, *Venerupis pullastra*, en la Ría de Arousa, Galicia”.

Comunicaciones en panel presentadas al VII congreso Nacional de Acuicultura celebrado en Mayo de 1999 en Las Palmas de Gran Canaria:

“Primeros datos sobre el reclutamiento y el crecimiento de las poblaciones naturales de almeja bicuda, *Venerupis aurea*, en la Ría de Arousa, Galicia”.

“Efecto de las artes de pesca tradicionales del marisqueo a pie “sacho” y “ganchelo” sobre el reclutamiento de los moluscos bivalvos”.

13. PROYECTO: ENSAYO DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS PARA EL CONTROL DE LAS PATOLOGÍAS BACTERIANAS EN ACUICULTURA MARINA CON VISTAS A SU POSIBLE REGISTRO.

AÑO:

Comienzo del plan: 1999

Finalización del plan: 2004

OBJETIVOS:

Estudio farmacocinético y biofarmacéutico de los antibióticos oxitetraciclina y florfenicol en rodaballo con el objeto de establecer una posología adecuada.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Universidad de Santiago de Compostela

Centro: Facultad de Farmacia

Departamento: Farmacia y Tecnología Farmacéutica

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: José

Apellidos: Blanco Méndez

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología, y Cluster de Acuicultura de Galicia

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

Metodología:

Los antibióticos, oxitetraciclina y florfenicol, empleados en este trabajo han sido seleccionados por su importancia en la acuicultura. La oxitetraciclina, dado su bajo coste, ha sido empleada durante años de forma indiscriminada en la acuicultura, lo que ha provocado la aparición de multitud de cepas resistentes. El florfenicol, ha sido recientemente incorporado al mercado de la acuicultura, gracias a la aprobación de su uso en animales destinados al consumo humano.

Para lograr el objetivo propuesto, en el presente trabajo se han realizado diversos estudios *in vitro* encaminados a la determinación de la solubilidad de los fármacos en agua de mar y la velocidad de liberación de éstos a partir de piensos medicados. En la segunda etapa del trabajo se realizarán una serie de estudios farmacocinéticos con el objetivo de determinar los parámetros de absorción, distribución y eliminación característicos de estos antibióticos en rodaballo, y establecer las pautas óptimas de administración. A partir de los resultados, se simularán diferentes regímenes posológicos con el fin de obtener aquel más adecuado en función a la ventana terapéutica del antibiótico, así como de la facilidad y comodidad en la administración. Una vez seleccionado el régimen posológico, se realizará un ensayo de dosis repetidas contrastando los datos teóricos con los experimentales y comprobando la bondad del modelo desarrollado. Además el

estudio nos permitirá determinar los niveles de antibiótico que se distribuye y acumula en los tejidos, permitiendo determinar el periodo de espera necesario para alcanzar los niveles mínimos exigidos por la ley.

Estudios *in vitro*:

Estudios de solubilidad

Para la elaboración de los estudios de solubilidad, se adiciona exceso de antibiótico en 12 tubos de rosca, conteniendo 10 ml de agua purificada en 6 tubos y 10 ml de agua de mar en los otros 6 tubos. Los tubos se mantienen en un agitador orbital un período de 8 días, con el fin de permitir el establecimiento del equilibrio de solubilidad. Transcurridos estos días, los tubos son centrifugados a 5000 rpm, y filtrados a través de filtros de nylon de 0.45 μ m, para eliminar el exceso de antibiótico sin disolver.

Estudios de la velocidad de disolución

La liberación de OTC (oxitetraciclina) se realiza a partir de un gramo de pienso medicado, empleando 100 ml de agua de mar como medio de liberación. Se recogen muestras a distintos tiempos que son filtradas a través de filtros de membrana de 0.45 μ m y analizadas mediante cromatografía líquida de alta resolución. En el caso del estudio de liberación del FF (florfenicol), se colocan en cada cubeta del aparato de disolución Prolabo Dissolutest (Sistema nº 2 de la USP) 900 ml de agua de mar. En cada cubeta se añade la cantidad de pienso necesario para contener 10 mg de FF, manteniendo el medio en agitación a 50 rpm. Cada 10 minutos se toman muestras filtradas a través de filtros de 45 μ m, determinando la concentración del antibiótico mediante espectrofotometría UV.

Determinación espectrofotométrica del florfenicol

La cuantificación de florfenicol en disolución se realiza empleando un espectrofotómetro de red de diodos Hewlet Packard 2045^a. Debido a que el pienso y el agua de mar presentan cierta absorbancia en las longitudes de onda propias de los principios activos (figura 1), es necesario emplear técnicas especiales de cuantificación. Para eliminar dichas interferencias se opta por el desarrollo de un método basado en el empleo de las derivadas (figura 2), puesto que en las zonas de máxima absorción del FF (226 nm), aunque existe absorción importante por parte del pienso, éste no presenta ningún máximo. En concreto, se emplea la segunda derivada de los espectros de absorción para realizar la cuantificación. De esta manera se minimizan las interferencias asociadas al pienso y se obtiene una calibración adecuada (figura 3). El método es validado por las técnicas habituales con el fin de establecer su utilidad.

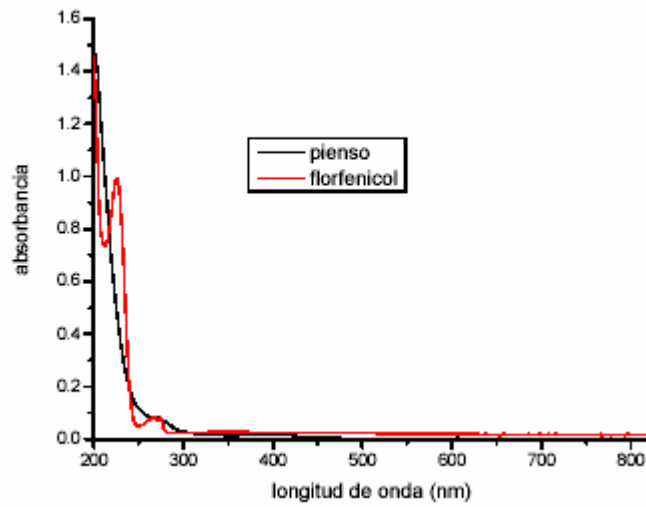


Figura 1. Espectros de absorción UV-VIS del florfenicol y de los componentes solubles del pienso empleado para la elaboración del pienso medicado.

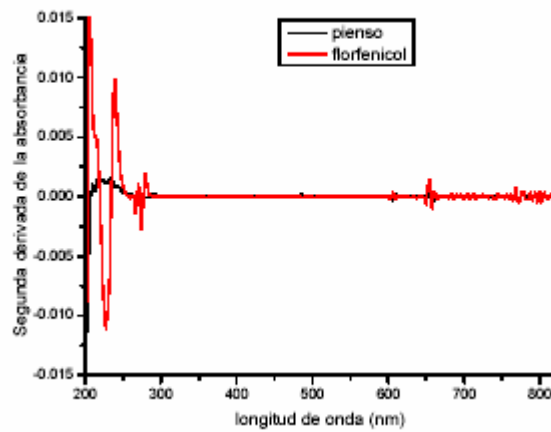


Figura 2. Curvas de la segunda derivada de la función absorbancia del florfenicol y de los componentes solubles del pienso empleado para la elaboración del pienso medicado

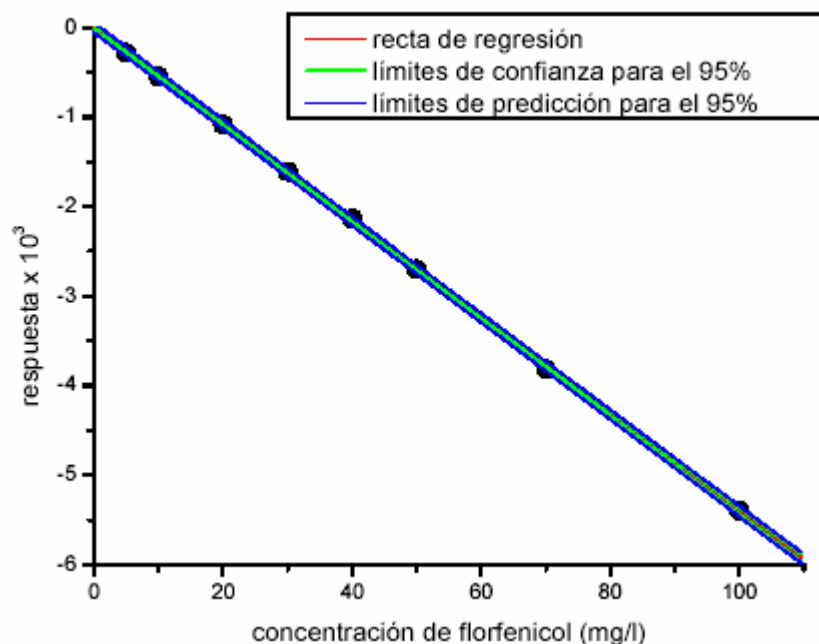


Figura 3. Ajuste al modelo lineal mediante métodos de regresión, para el calibrado del método UV-vis de la segunda derivada para la determinación de florfenicol disuelto en agua de mar en presencia de pienso.

Estudios *in vivo*

Técnica analítica

El método analítico escogido para la detección y cuantificación del florfenicol y de la oxitetraciclina en plasma y en tejido de peces, es la Cromatografía Líquida de Alta Eficacia, HPLC (High Performance Liquid Chromatography) debido a la precisión, sensibilidad y eficacia que esta técnica nos otorga. El equipo de cromatografía (Merk-Hitachi) empleado en el estudio, consta de una bomba modelo L-6200, un inyector automático AS-4000, un termostato L-5025 para la columna, un detector UV de Red de Diodos modelo L-4500, conectado a un ordenador COMPAQ Deskpro XE 450 mediante una Interface modelo D-6000. Para el análisis del FF en las muestras de plasma de los peces se emplean dos columnas de separación, ambas de fase reversa C18 con partículas de 5 μm de diámetro. En concreto en la parte inicial del trabajo se utiliza una Lichrospher 100 RP-c18 (125x4 mm) que es sustituida por una Simetry RP-c18 en la segunda parte. Para proteger la columna se emplea una precolumna de idénticas características que la columna anteriormente descrita. La fase móvil empleada en el análisis de las muestras, es una mezcla de 0,05 M de acetato amónico, pH 7, y acetonitrilo (80:20,V/V). El flujo seleccionado es de 1,3 ml/min, el cual genera una presión de 140 kgf/cm^2 . Todos los disolventes, antes de inyectarlos en la columna, son filtrados a través de filtros de nylon de un diámetro de poro de 0,45 μm . El FF es detectado a una longitud de onda de 225 nm.

Para mejorar la resolución de los picos es necesario termostatar la columna a una temperatura de $50 \pm 0,5^\circ \text{C}$. El inconveniente de emplear temperaturas tan elevadas es que se reduce considerablemente la vida de la columna. Por ello, en la segunda etapa del trabajo (dosis múltiples), la columna es sustituida por una Simetry RP-c18 (waters), caracterizada por su elevada eficacia y resolución a la hora de resolver los picos. Esto permite la disminución de la temperatura a 30°C , manteniendo la resolución del método. Por otro lado, la sustitución del tipo de columna obligó a realizar una segunda validación del método analítico con la finalidad de asegurar la calidad de los resultados.

Las rectas de calibración obtenidas empleando los dos tipos de columnas se muestran en las figuras 4 y 5.

Para el análisis de las muestras de FF en tejido de rodaballo se emplea un método similar al utilizado para las muestras de plasma, incorporando una columna Simetry RP-c18 con el fin de disminuir la temperatura de trabajo.

La recta de calibración obtenida se muestra en la figura 5.

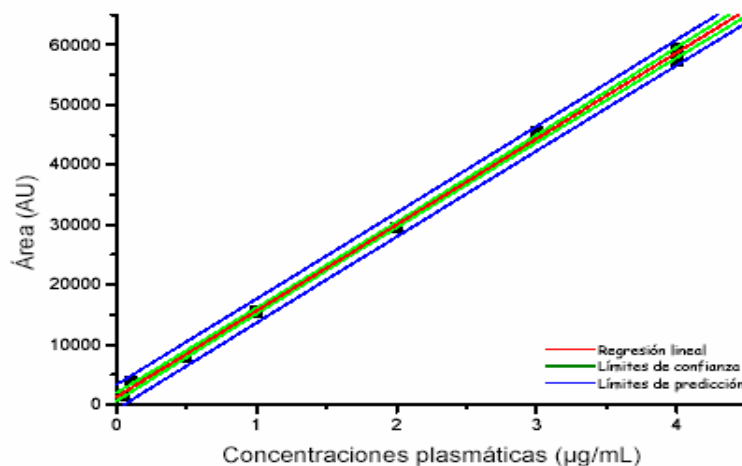


Figura 5. Ajuste al modelo lineal mediante métodos de regresión, para el calibrado del método de determinación de florfenicol en plasma empleando la columna Simetry RP-c18.

Administración intravenosa

Para el estudio de la cinética de eliminación del florfenicol se administra una dosis de 10 mg de FF/kg de peso pez por vía intravenosa. Los peces son mantenidos en circulación continua de agua de mar, a temperatura de $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$. El peso medio de los peces empleados en este experimento es de $98,7 \pm 6,3$ g.

La solución inyectada se prepara disolviendo 100 mg de FF en 7,5 ml de propilenglicol, y es ajustado a un volumen final de 10 ml con agua destilada. La solución es esterilizada por filtración (0,2 μm de diámetro de poro, Schleicher & Schuell) y colocada en envases estériles. El medicamento es administrado inyectando 0,1 ml de dicha solución por punción en la vena caudal. Por tanto, la dosis administrada es de 10 mg de FF/kg de peso corporal. Las muestras de sangre son recogidas por punción de la vena caudal, pasadas 1, 3, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 48 y 96 h tras la administración del medicamento.

Administración oral

Para el estudio de absorción del FF en el rodaballo se emplea pienso medicado, elaborado a partir de pienso fresco y el antibiótico.

En un mortero de vidrio se añaden 8,0 g de Aquaflor y son dispersados con 8 ml de agua destilada. A esta dispersión se le va añadiendo poco a poco el pienso, a la vez que se agita para así conseguir una mezcla homogénea. La cantidad de pienso añadida es de 64,0 g.

El pienso medicado se administra directamente al esófago de los peces, mediante jeringuillas de 1 ml modificadas para este fin y precargadas con la cantidad de pienso necesaria. La dosis final administrada es de 100 mg/kg de peso pez.

El peso medio de los peces empleados en este experimento es de $101,6 \pm 5,1$ g y la salinidad es del 35‰. Los peces no son alimentados los 2 días previos a la administración del medicamento. Durante el experimento, aunque se suministra alimento a los peces, éste no es ingerido.

Los tiempos de recogida de muestras fueron los mismos que para la administración intravenosa (1, 3, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 48 y 96 h).

Dosis repetidas

Para la elaboración de la dosis de mantenimiento (200g) el pienso es triturado y molturado en un molino de cuchillas (Ika) hasta obtener un tamaño adecuado. Cantidades adecuadas de florfenicol y pienso molturado son mezclados durante un tiempo mínimo de 15 min. en una mezcladora túrbula TC2. La mezcla es malaxada empleando agua purificada como humectante en una malaxadora planetaria kenwood y finalmente extruido en una extrusora de tamices (Caleva 120), empleando un tamaño de malla de 2 mm. Los pelets así obtenidos se secaron en estufa a 50°C .

En el caso de la obtención de la dosis de ataque (36 g), no es posible la utilización de esta metodología dada la pequeña cantidad a fabricar, por lo que se elabora modificando el protocolo de la siguiente manera: la trituración del pienso, el mezclado con el antibiótico y el malaxado con agua se realiza de forma manual en un mortero cerámico y la extrusión de la masa se realiza con un pequeño extrusor de pistón manual cortando los pelets con cuchilla a la longitud adecuada.

Para este experimento, el pienso no se administra directamente al esófago de los peces, tal como ocurrió en los ensayos anteriores. La dosificación se realiza calculando la dosis de pienso necesaria en función del peso medio de los peces empleados (30 g). El pienso es administrado siguiendo las pautas habituales en la alimentación de los rodaballos, asegurándose visualmente la total ingestión de la cantidad depositada.

Análisis farmacocinético

La farmacocinética del FF es establecida mediante el estudio de las variaciones temporales de su concentración en el plasma sanguíneo.

Para la obtención del plasma se siguen una serie de pautas que se enumeran a continuación. Los peces, una vez sacados del tanque, son colocados inmediatamente en una superficie plana previamente humedecida, para evitar lesiones cutáneas. La sangre es extraída por punción de la vena caudal. Como medida preventiva del estrés, durante la extracción los peces se mantienen con los ojos tapados. Una vez extraída la sangre, los peces son sacrificados y congelados para el análisis posterior de FF en tejidos

Tanto las jeringuillas como las agujas empleadas en este proceso son previamente heparinizadas. Como anticoagulante escogimos Heparina 1% (1000 U.I./ml) de los laboratorios farmacéuticos Rovi (Madrid, España).

La sangre es colocada en viales eppendorf de 1,5 ml a los que previamente se les añaden dos gotas de heparina y rápidamente se centrifuga a 5000 r.p.m. durante 5 min a 4 °C. El plasma sobrenadante es traspasado a otros viales eppendorf y en los que es congelado a -20 °C, hasta su análisis.

Para la realización de los análisis, las muestras son descongeladas introduciéndolas en un frigorífico a 4°C el tiempo necesario para su total descongelación. Para desproteínizar y extraer el FF de las muestras a 1 ml de plasma, se le adicionan 2 ml de acetato de etilo. Las muestras homogenizadas se centrifugan, recogiendo 1 ml de sobrenadante (acetato de etilo con FF). El sobrenadante se evapora en un rotoevaporador a 40 °C, el residuo se redisuelve en agua procediéndose a su filtración empleando filtros de membrana de 0.45 µm. El filtrado es inyectado en el HPLC.

Para determinar el FF residual en tejidos, se descongelan los peces y se extraen muestras de músculo. 1 g de músculo se tritura y homogeneiza con 1 ml de agua en un mortero. La pasta obtenida se vierte en un tubo de rosca al que se adiciona acetonitrilo, poniendo la muestra a homogenizar en un agitador orbital. Transcurridas 12 horas, se centrifugan las muestras, recogiendo una muestra de sobrenadante que se filtra (0.45 µm) y se inyecta en el HPLC.

Resultados:

Estudios in vitro:

Estudios de solubilidad:

En la figura 4 se muestran la media (n=3) de los espectros de absorbancia de las disoluciones saturadas de OTC, empleando agua destilada y agua de mar. Se observa que se produce una reducción significativa de los niveles de absorbancia en las muestras en las que se emplea agua de mar como disolvente con respecto a las muestras en las que se utiliza agua purificada. Existe en la bibliografía un gran número de referencias sobre la interacción de la OTC con diferentes cationes que trae como consecuencia una reducción importante en su solubilidad. Este hecho ha sido descrito como el causante de la importante disminución de la biodisponibilidad en humanos de este antibiótico cuando se administra conjuntamente con alimentos que incorporan altos contenidos en cationes como puede ser el Ca^{++} presente en los productos lácteos. Dado el alto contenido en sales del agua de mar, es lógica la disminución apreciada en la solubilidad del OTC.

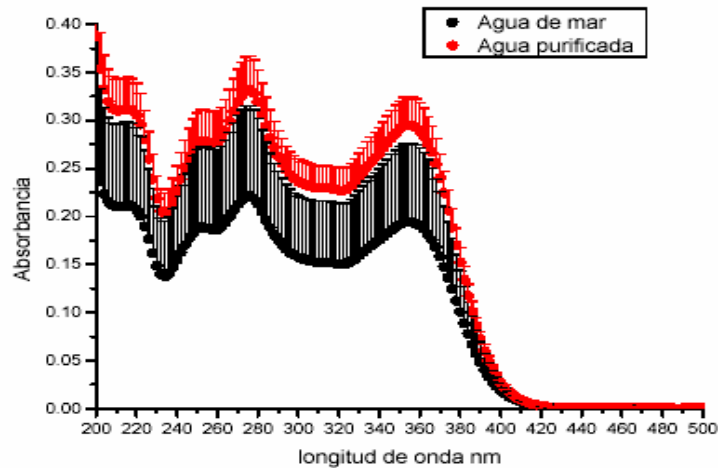


Figura 4. Espectros de absorción de dos disoluciones saturadas de OTC empleando agua purificada y agua de mar como disolvente.

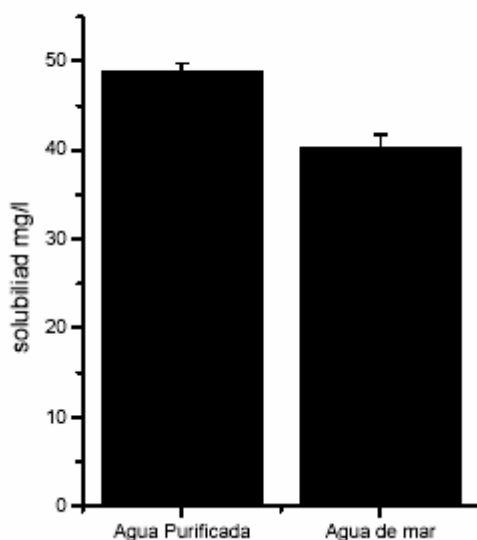


Figura 5. Solubilidad en agua purificada y agua de mar del FF.

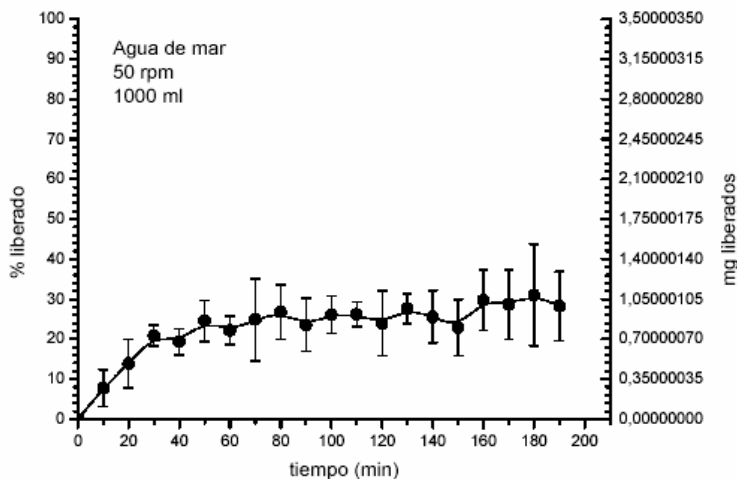
El florfenicol presenta también una ligera disminución en su solubilidad en el agua de mar con respecto al agua purificada, aunque no parece ser muy importante desde un punto de vista práctico.

Liberación

Los ensayos de liberación realizados con pienso conteniendo OTC muestran que no se produce una cesión significativa del fármaco a la media hora de iniciado el ensayo de disolución. Probablemente la interacción con cationes presentes en algunos de los productos empleados en la elaboración del pienso disminuya su solubilidad, por lo que quede el antibiótico retenido en su interior.

Sin embargo para el pienso conteniendo FF, se observa una liberación significativa de antibiótico al medio que llega a ser próxima a un 20 % de su contenido a los 30 minutos. Esta liberación prematura puede causar problemas en la correcta dosificación del FF así como de contaminación al liberarse el antibiótico al tanque.

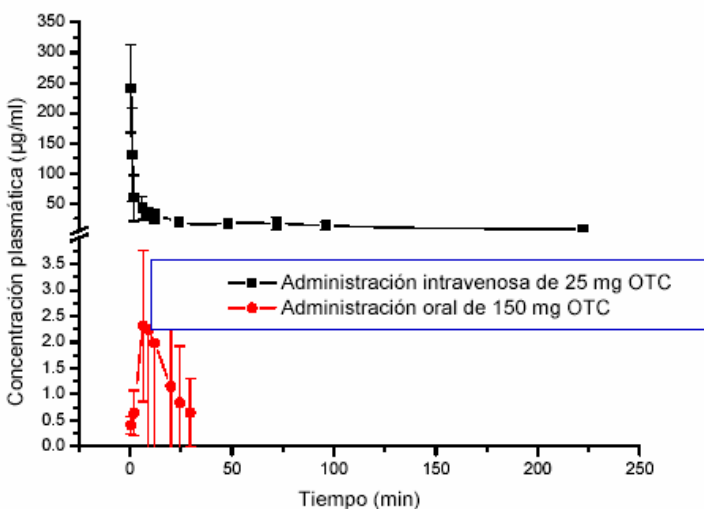
Figura 6. Velocidad de liberación del FF en agua de mar.



Administración intravenosa y oral de OTC

Las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 25 mg/kg o de 150 mg/kg de OTC por vía oral se muestran en la figura 7. La evolución de la media de dichas concentraciones plasmáticas se ajusta a un modelo bicompartimental con cinética de eliminación de primer orden (tabla 1).

En la tabla 1 se muestran las áreas bajo la curva estimadas a partir de los niveles plasmáticos de la OTC así como su biodisponibilidad oral. Llama la atención la extremadamente baja biodisponibilidad oral presentada por la OTC. Este valor indica que solo el 0.21 % de la dosis administrada es absorbida por los peces, por lo que una cantidad muy importante permanece en el tanque contaminando el medio, lo que favorece la aparición de resistencias. Esto implicaría además que para obtener concentraciones efectivas de antibiótico sea necesario aumentar de manera muy importante la dosis en el pienso, lo que agravaría los problemas de contaminación. La causa más probable de la baja biodisponibilidad es, tal como ya se ha comentado, que las tetraciclinas son conocidas por establecer complejos con cationes di- y trivalentes, abundantes en el agua de mar. Estos complejos son menos solubles y no atraviesan las membranas biológicas fácilmente, y esto puede impedir la absorción de las tetraciclinas. La absorción de la OTC puede también reducirse a causa de un valor desfavorable de pH en el intestino de los peces que causa que solamente una pequeña fracción de OTC esté disponible para ser absorbida. Por último, la OTC sufre normalmente un efecto de primer paso significativo lo que disminuye aún más su biodisponibilidad.



A ₀	α	B ₀	β	k _{el} (h ⁻¹)	MRT _{iv} (días)	t _{1/2} (días)	V _d ^{ee}
125,9	0,25	21,37	4,6 10 ⁻³	0,028	8,99	6,81	0,91

Figura 7. Concentraciones plasmáticas medias y parámetros farmacocinéticos de OTC en rodaballo tras su administración intravenosa en dosis de 25 mg /kg y concentraciones plasmáticas medias tras su administración oral en dosis de 150 mg /kg.

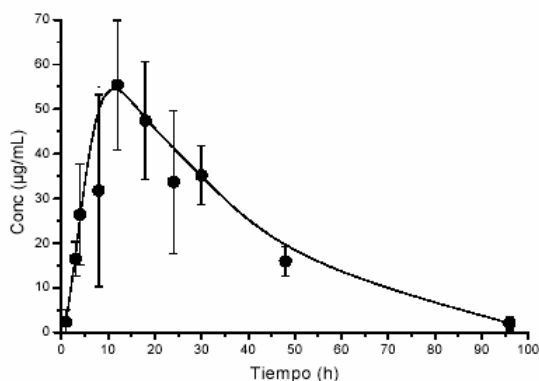
	Intravenosa	Oral
AUC_0^t	3606,38	39,98
AUC_0^∞	4018,93	50,06
$\frac{AUC_0^\infty}{AUC_0^t} \cdot 100$	10,06	20,1
Biodisponibilidad	--	0,21

Tabla 1. Biodisponibilidad oral y áreas bajo la curva de los niveles plasmáticos obtenidos tras la administración de OTC por vía intravenosa y oral.

Administración Intravenosa de FF

Las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración intravenosa de una dosis de 10 mg/kg de FF figuran en la tabla de la figura 8. La evolución de la media de dichas concentraciones plasmáticas se ajusta a un modelo monocompartimental con cinética de eliminación de primer orden (Figura 8).

El volumen de distribución, V_{dee} del FF en el rodaballo, obtenido tras la administración intravenosa, es de 0,78 l/kg. Este resultado es inferior al obtenido para otras especies, indicando una menor distribución del fármaco en tejidos, y es un valor característico de fármacos que se distribuyen bien a través de todo el agua corporal. Además, los valores de semivida de eliminación (19,25 horas) del FF en el rodaballo son menores que los obtenidos para otros quimioterápicos usados habitualmente en acuicultura, indicando una eliminación más rápida de este fármaco. Una rápida eliminación del FF debe ser considerada como un factor positivo a la hora de seleccionar un quimioterápico para el tratamiento de enfermedades bacterianas en peces que hayan alcanzado la talla de venta, ya que implica que los periodos de supresión serán breves. En concreto teniendo en cuenta el valor de la semivida de eliminación estimada, el 95% del fármaco administrado se eliminaría en algo menos de 4 días, y el 99 % transcurrido 6 días tras su administración.



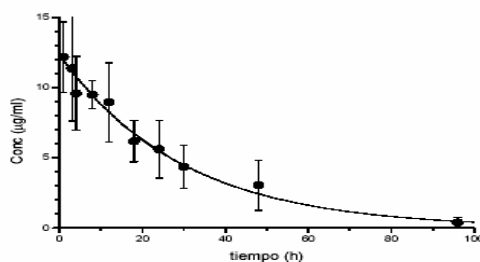
Dosis (mg/kg)	C ⁰ (mg/kg)	k _{el} (h ⁻¹)	A ⁰ (mg/kg)	k _a (h ⁻¹)	t ₀ (h)	T _{máx} (h)	C _{máx} (µg/ml)
98,28	101,48	0,040	143,77	0,22	1,89	11,41	48,61

K_a = constante de absorción; t₀ = tiempo de latencia; C_{máx} = concentración máxima alcanzada; T_{máx} = tiempo al que se alcanza la concentración

Figura 8. Concentraciones plasmáticas medias y parámetros farmacocinéticos del florfenicol en rodaballo tras su administración intravenosa en dosis de 10 mg de FF/kg.

Administración Oral

La evolución de las concentraciones plasmáticas tras la administración oral del FF, se ajusta a un modelo monocompartimental con cinética de absorción lineal. Los resultados del ajuste de los datos al modelo monocompartimental presentan mayores deficiencias que en el caso de la administración intravenosa encontrándose pequeñas diferencias entre los valores de C_{máx} predichos (48,61 µg/ml) y los experimentales 55,4 µg/ml (Figura 9).



Dosis (mg/kg)	C ₀ (µg/ml)	k _{el} (h ⁻¹)	t _{1/2} (h)	MRT _{iv} (h)	V _{d[∞]} (l/kg)	AUC _{0-∞} (µg.h/ml)
10,13	12,85	0,036	19,25	27,62	0,78	356,95

Figura 9. Concentraciones plasmáticas medias y parámetros farmacocinéticos (modelo monocompartimental) del florfenicol en rodaballo tras la administración oral de 100 mg de FF/kg de peso de pez.

Este desfase entre los valores observados y los obtenidos mediante el modelo, puede ser indicativo de que la absorción no sigue estrictamente una cinética de absorción de primer orden, o bien que los niveles no se ajustan estrictamente al modelo monocompartimental. La aplicación del método de Wagner y Nelson permite confirmar que el proceso de absorción se ajusta a una cinética de primer orden y que por lo tanto la causa más probable se debe a deficiencias en los ajustes al modelo de un solo compartimento, probablemente por la gran variabilidad encontrada para las concentraciones plasmáticas próximas al máximo de absorción.

En este estudio, la biodisponibilidad del florfenicol en pienso es estimada en un 57,1%. Este valor no está de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores en otras especies como el salmón donde se han estimado valores entre un 96,5% y un 99%. Los bajos valores de biodisponibilidad obtenidos para el FF en el rodaballo, podrían deberse al empleo de dosis excesivamente altas que podrían encontrarse fuera del rango lineal de absorción para este fármaco.

Para poder verificar esta hipótesis se diseña un experimento en el que se administran por vía oral piensos a rodaballos con diferentes dosis de FF, comprobando los niveles plasmáticos máximos obtenidos para cada una de las dosis administradas. Los resultados se muestran en la figura 10.

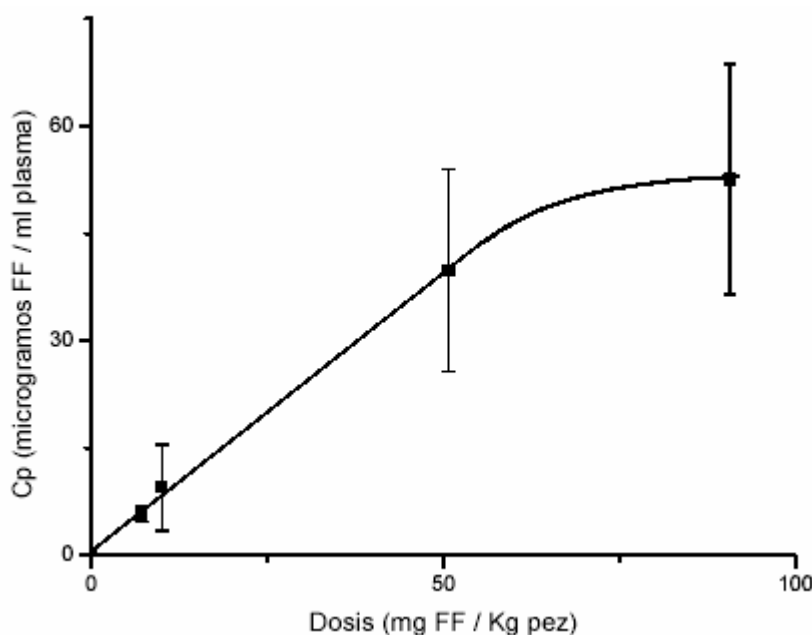


Figura 10. Relación entre las concentraciones plasmáticas máximas y parámetros farmacocinéticos (modelo monocompartimental) del florfenicol en rodaballo tras la administración oral de 100 mg de FF/kg de peso de pez.

Tal como se observa, existe una correlación lineal entre la dosis y la concentración máxima para dosis inferiores a 50 mg /kg, lo que indica que se trata de un proceso lineal de absorción. Sin embargo, a dosis superiores se produce una evidente desviación de la linealidad, por lo que la baja biodisponibilidad del fármaco a dosis de 100 mg/kg peso se debe probablemente a una saturación de los mecanismos de absorción del FF. Extrapolando los valores a partir del tramo lineal se observa una disminución de más del 38 % en la absorción del fármaco para esta dosis.

Una vez establecidas las causas de la disminución de la biodisponibilidad, se procede a la selección del régimen posológico más adecuado para el tratamiento con este antibiótico. La mayoría de los tratamientos requieren una administración de dosis múltiples, es decir, la administración de forma repetida de una dosis (dosis de mantenimiento, D_m) a intervalos prefijados de tiempo (intervalo posológico, τ). La selección de la D_m y del τ debe estar basada en el perfil de actividad - toxicidad del fármaco y en consideraciones farmacocinéticas. De forma general, se puede decir que la finalidad de un tratamiento es conseguir y mantener unas concentraciones plasmáticas dentro del denominado margen terapéutico.

Para poder establecer el régimen posológico se escogen los parámetros farmacocinéticos calculados para el FF mediante el modelo monocompartmental ya que, a pesar de que el ajuste mediante este modelo no es exacto, permite estimar las concentraciones de forma adecuada.

El modelo posológico se establece para el tratamiento frente a *A. salmonicida* teniendo en cuenta que la concentración inhibitoria de FF obtenida para las cepas de *A. salmonicida* sensibles a este antibiótico es de 0,78 y 1,56 $\mu\text{g/ml}$. En función de estas CMI se determinan las concentraciones mínimas eficaces como 7,8 y 15,6 $\mu\text{g/ml}$, ésta última para el caso de las cepas más resistentes. Las CME se escogen en base a la teoría en la que se indica que debe superar en 10 veces la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) calculada para un patógeno *in vitro*. Otras teorías proponen que tan sólo se debe superar en 3-4 veces la CMI, pero en base a los estudios de toxicidad existentes para este antibiótico, aún se está dentro de un margen muy amplio de seguridad. (LD50 del FF en ratones esta establecida en de 1958,05 mg/kg).

Una correcta selección de la dosis de fármaco y de los intervalos de administración de las mismas, permitirá la adecuada instauración del tratamiento. Para poder establecer el régimen posológico correctamente, se debe tener en cuenta la biodisponibilidad para cada dosis. Aunque en el estudio se obtiene una biodisponibilidad de un 58,8% para una dosis de 100 mg de FF/kg, para dosis menores de 50 mg/kg se prevé una completa biodisponibilidad al encontrarnos dentro de la zona lineal de absorción del fármaco. Teniendo en cuenta estas características, se establece como óptimo régimen posológico, la administración de una dosis de ataque de 30 mg de FF/kg de pez separadas en un intervalo de 24 horas seguido de 6 dosis de mantenimiento de 18 mg/kg de pez cada 24 horas. Sin embargo, la simulación de los niveles plasmáticos pone de manifiesto una disminución de los niveles mínimos a las primeras 24 horas por debajo de la CME de 15.6 $\mu\text{g/ml}$. Para evitarlo se propone administrar una segunda dosis de ataque de 30 mg que evita esta circunstancia. Los niveles simulados para el régimen propuesto se muestran en la figura 11.

Con el fin de corroborar los datos propuestos se realiza un ensayo de dosis múltiples en rodaballo empleando el régimen posológico propuesto. Los resultados se muestran en la figura 12

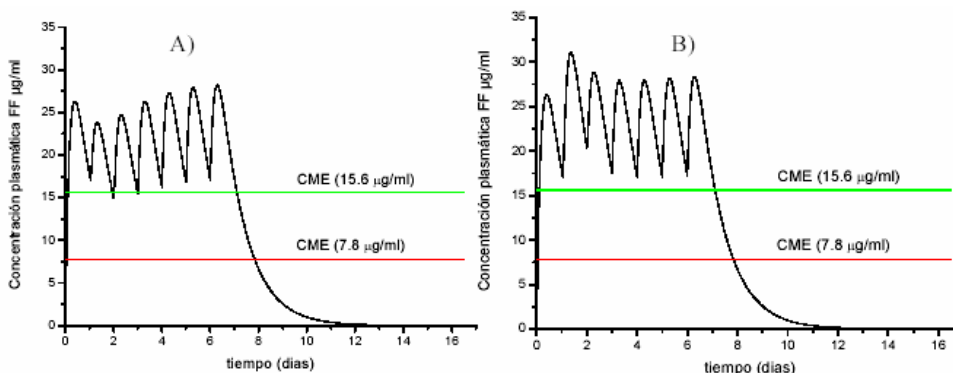


Figura 11: Representación, a partir de datos simulados, de los niveles plasmáticos cuando se administran A) una dosis de dosis de 30 mg/kg pez y seis de 18 mg/kg pez con un intervalo de dosificación de 24 horas B) dos dosis de dosis de 30 mg/kg pez y cinco de 18 mg/kg pez con un intervalo de dosificación de 24 horas.

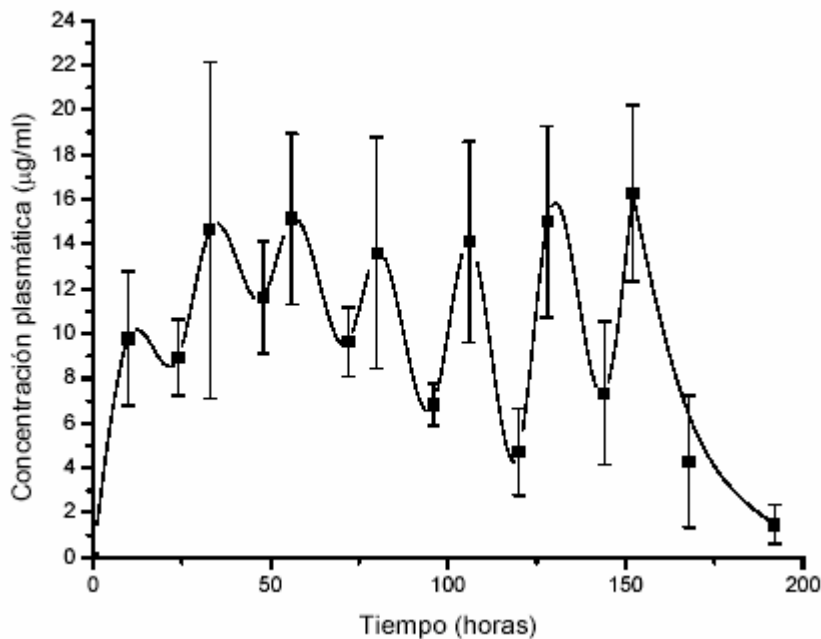


Figura 12. Niveles plasmáticos obtenidos a partir de la administración de pienso medicado siguiendo las pautas posológicas seleccionadas. Cada concentración corresponde a la media de la concentración plasmática de 6 rodaballos

Tal como se observa, los niveles de FF en plasma son menores que los simulados a partir de los datos farmacocinéticos. La principal causa se debe a la diferente forma de administración de FF empleada para la determinación de los parámetros farmacocinéticos. En este caso el pienso se introduce mediante una cánula directamente en el esófago, lo que asegura la administración de la dosis correcta. Sin embargo, para el ensayo de las dosis múltiples, el pienso se adiciona sobre la superficie del agua del tanque. Esto hace que, por una parte, se pueda liberar parte del contenido antes de ser ingerido por los rodaballos. Tal como se determina en los ensayos *in vitro* de liberación, el pienso libera al medio más del 20% de su contenido en menos de media hora. Por otra parte, no asegura que todos los rodaballos reciban la dosis teórica indicada.

Este problema podría evitarse en parte formulando el FF en el pienso, de forma que no sea liberado tan rápidamente al medio.

Conclusiones:

Desde un punto de vista biofarmacéutico, la baja biodisponibilidad de la OTC desaconseja su uso para este tipo de tratamientos, ya que la existencia de una gran cantidad de cationes, tanto en la composición de los piensos como en el propia agua de mar, provoca la formación de complejos con este antibiótico incapaces de ser absorbidos.

La existencia de una relación no lineal para la absorción del antibiótico FF a dosis altas desaconseja su empleo a dosis superiores de 50 mg/kg de peso, ya que se produciría una absorción incompleta del fármaco, que permanecería como residuo provocando problemas de contaminación. De todas formas, dosis inferiores a 50 mg/kg permiten establecer pautas posológicas adaptadas al sistema habitual de administración de alimentos en las factorías

La liberación prematura de florfenicol al agua de los tanques, que se produce desde su dosificación hasta que es ingerido por los peces, plantea problemas en la correcta dosificación, por la pérdida que se produce del antibiótico al solubilizarse y liberarse al medio. Para evitarlo sería necesario formular el antibiótico en el pienso de forma que se evite su liberación.

COMENTARIOS FINALES.

Debido al tiempo transcurrido entre la solicitud del proyecto 1998 y la formalización de la concesión a finales del año 2001, se produjeron una serie de incidentes difíciles de prever que han retrasado la realización de este proyecto. Durante este período han surgido problemas en el funcionamiento de los acuarios de la Universidad de Santiago de Compostela que imposibilitaron su utilización, además de los graves problemas de contaminación generados por el hundimiento del Prestige, que provocaron un serio retraso en la realización de los estudios *in vivo*, cuya realización estaba prevista inicialmente en la piscifactoría que Stolt Sea Farm posee en Lira. Por otra parte, durante este período tuvo lugar la concentración de la actividad investigadora de las empresas que inicialmente apoyaron la solicitud, en el Cluster de Acuicultura de Galicia. Debido a este motivo, estas empresas trasladaron la mayor parte de su investigación a este organismo, y ello originó en primer lugar que parte del trabajo se desplazara a estas instalaciones aún y cuando no estaba previsto en el proyecto inicial. Por ello fue necesario replanificar y adaptar el plan de investigación a las disponibilidades del cluster. Por último, en la etapa final del proyecto se plantearon serios problemas para disponer del fármaco empleado en estos estudios, el florfenicol. Todos estos problemas generaron una serie de dificultades relacionadas con la experimentación animal y con el diseño de los experimentos. Estas circunstancias han obligado a continuos replanteamientos en la investigación y en el lugar de realización de los experimentos, lo que ha retrasado y dificultado la realización del proyecto.

Dejar constancia del agradecimiento al Dr. Santiago Cabaleiro, director del Cluster de Acuicultura, por las facilidades suministradas para la realización de la experimentación *in vivo* en la última etapa del proyecto.

Debido al retraso en la experimentación, además de un replanteamiento en el plan inicial, fue necesaria la inclusión de miembros en el equipo de investigación que no figuraban en el proyecto inicial.

14. PROYECTO: EL CULTIVO Y PRODUCCIÓN DE SOLÉNIDOS COMERCIALES: NAVAJA, *Ensis arcuatus*, Y LONGUEIRÓN, *Ensis siliqua*, EN TRES ÁREAS DE GALICIA

AÑO:

Comienzo del plan: 1998

Finalización del plan: 1999

OBJETIVOS:

El principal objetivo del presente proyecto es el estudio de especies de bivalvos con un alto valor comercial en Galicia y que han sido escasamente estudiadas, navaja y longueirón (*E. arcuatus* y *E. siliqua*), con el fin de aportar conocimientos que permitan una explotación racional evitando el agotamiento del recurso.

Para ello se establecen los siguientes objetivos:

- 1- Estudio del comportamiento reproductivo:
 - Determinar y definir una escala gametogénica.
 - Evolución del ciclo reproductivo a lo largo del año.
 - Influencia de los parámetros medioambientales.
 - Variaciones interanuales.
 - Variaciones intraespecíficas.
- 2- Evolución de la composición bioquímica de distintos órganos en relación con el ciclo gametogénico.
- 3- Estimación de la tasa de crecimiento de la navaja (*E. arcuatus*), a lo largo del ciclo de cultivo: con individuos obtenidos por técnicas de criadero y con semilla reclutada en el medio natural.
- 4- Análisis genético de las distintas poblaciones de solénidos comercializados en Galicia.

DATOS DE LA INSTITUCIÓN:

Organismo: Consellería de Pesca, Marisqueo y Acuicultura.

Centro: Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA)

COORDINADOR DEL PLAN:

Nombre: Alejandro.

Apellidos: Guerra Díaz.

UBICACIÓN DEL PROYECTO:

Se recogen muestras de las especies a estudiar en cuatro zonas de fuerte tradición y producción de este recurso, Ría de Vigo (Islas Cíes), Ría de Arousa (Banco de As Means), Ría de Pontevedra (Ensenada de Aldán) y Ría de Corcubión (Playa de Sardiñeiro - Finisterre). Todas las muestras son analizadas en el Centro de Investigaciones Mariñas de Vilanova de Arousa, en colaboración con los Departamento. de Bioquímica (Universidad de Vigo) y el de Biología Celular y Molecular de la Universidad de A Coruña.

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

Metodología:

Identificación de la especie de navaja de la Ría de Vigo

Se analizan un total de 276 especímenes pertenecientes a ejemplares de navaja procedentes de las Islas Cíes.

De cada individuo se selecciona una de las valvas y se mide la longitud (L), el ancho (A), el ancho en la zona media (Am), la curvatura dorsal (Cd) y la curvatura ventral (Cv). A partir del análisis biométrico de los parámetros citados y del análisis morfológico llevado a cabo con el acceso a la colección de moluscos del departamento de Zoología de Historia Natural de Londres, donde se encuentran valvas de *E. ensis* y *E. arcuatus*, se pudo profundizar en las diferencias externas de ambas especies y que son utilizadas por diversos autores en las claves de identificación.

Estudio de crecimiento de la navaja

Se capturan individuos adultos del banco natural de las Islas Cíes en época de madurez sexual y se trasladan, en neveras isotermas, al CIMA de Ribadeo, que posee las instalaciones adecuadas para la producción de semilla.

Los reproductores se mantienen en tanques de acondicionamiento con arena y agua a 20 ± 1 °C, para favorecer el enterramiento y simular las condiciones naturales hasta el momento de la inducción a la puesta, que se realiza mediante choques térmicos (hasta 25 °C), añadiendo microalgas para activar el metabolismo de los progenitores durante el proceso y adicionando extractos gonadales para estimular la puesta. Para evitar la polispermia, en la bandeja de inducción, se separan en recipientes individuales las hembras una vez han iniciado la puesta y cuando ésta finaliza (20-30 minutos) se añade líquido (2-3 ml) que contiene espermatozoides preferiblemente de varios machos para el inicio de la fecundación.

La incubación y cultivo de larvas se realiza en tanques troncocónicos y la alimentación con microalgas está compuesta por diversas especies (*Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana*, *Skeletonema costatum* y *Chaetoceros calcitrans*) en igual proporción a una ración de 40 células/ μ l en los primeros días de cultivo larvario, incrementándose hasta 80 células/ μ l después de la metamorfosis.

A los 20 días tiene lugar la metamorfosis, con una talla media de 400 μ m de largo. La fijación se realiza en tamices de 250 μ m de luz de malla.

Las post-larvas se mantienen en circuito cerrado. Al alcanzar la semilla una talla aproximada de 1 cm se pasa a tanques en circuito semiabierto, con una capa de 30 cm de arena de textura fina y media con bajo contenido en materia orgánica. La semilla permanece en los tanques hasta alcanzar la talla adecuada para su traslado y control en medio natural.

Mensualmente se recoge una muestra de 30 individuos y se realiza un control de parámetros biométricos: longitud, ancho y peso total.

La semilla mantenida en semillero se traslada a la zona intermareal de la playa de Corón (Ría de Arousa), tras alcanzar una talla adecuada para su manejo y control en jaulas enterradas en el sustrato. Los individuos se siembran en densidad de 120 unidades/m²; se hacen agujeros en la arena y se coloca las navajas en ellos facilitando su enterramiento en el sustrato.

Se disponen dos jaulas en total con juveniles de 1 año de edad y se realizan controles periódicos (cada tres meses una jaula) de longitud, ancho y peso total. Con esta experiencia se determina la talla al año de vida.

Juveniles de navaja (*E. arcuatus*), procedentes del medio natural, se trasladan y se mantienen en jaulas enterradas en la arena en la zona intermareal de la playa de Corón (Ría de Arousa). Se estudia el crecimiento a partir del primer año estimado de vida. El 16 de abril de 1999, se recoge, del banco natural, una muestra de 250 individuos de tallas comprendidas entre 50 y 70 mm que se distribuyen en grupos homogéneos.

Se dispone en total de 5 jaulas con una densidad inicial de 200 unidades/m². Se controla mensualmente una de las jaulas. Cada tres meses se muestrean las tres jaulas para analizar la tasa de crecimiento de cada grupo.

Estudio reproductivo

Periódicamente se muestrean los bancos naturales de navaja en la Ría de Vigo (Islas Cíes), la Ría de Pontevedra (Ensenada de Aldán) y Ría de Arousa (banco de As Meáns). También de forma periódica se muestrean bancos naturales de longueirón en la Ría de Corcubión (playa de Sardiñeiro – Finisterre).

Los ejemplares son recogidos periódicamente por miembros de la “agrupación de buceadores” mediante la técnica de “buceo con apnea”. El traslado al laboratorio se produce en condiciones isotermas. En la mañana siguiente se procesan los especímenes de las muestras para los análisis correspondientes.

Los ejemplares se miden para obtener datos de longitud, peso total y peso seco de las valvas (3 horas a 60 °C en estufa). Se diseccionan cuidadosamente distintos tejidos: gónada, glándula digestiva, músculo abductor anterior y pie. Se pesan separadamente, obteniendo así el peso fresco de cada tejido y el índice de condición.

En el caso de la navaja de la ría de Vigo y el longueirón de Finisterre se realizan cortes histológicos de la gónada teñidos con hematoxilina-esosina para estudiar el ciclo gametogénico a nivel microscópico.

Estudio bioquímico

Partiendo de los mismos individuos de navaja, del banco natural de la Ría de Vigo (Islas Cíes), utilizados para el estudio histológico, se determina el contenido en proteínas totales, lípidos totales, triglicéridos, glucógeno y glucosa libre en distintos tejidos.

Durante el procesado de los individuos en el laboratorio se diseccionan y pesan por separado las gónadas, glándula digestiva, músculo abductor anterior y pie, elaborándose los índices de condición de cada uno de estos tejidos.

Los análisis bioquímicos se realizan después de conocer el sexo y el estadio reproductivo de cada individuo mediante el estudio de las preparaciones histológicas.

En cada muestreo, se agrupan los tejidos de los individuos del mismo sexo y en el mismo estado de madurez para proceder a la elaboración de los grupos de trabajo.

Resultados:

Identificación de la especie de navaja de la Ría de Vigo

Los resultados obtenidos, y su comparación con trabajos de otros autores, aportan información determinante para la identificación de la especie objeto de estudio:

- En la especie de navaja estudiada, se registran tallas de hasta 15 cm de longitud, coincidiendo con los valores referidos por diversos autores para *E. arcuatus*.
- La curvatura dorsal de la especie que se pretende identificar coincide con los resultados de Holme (1951, el cual hizo una medida de la curvatura dorsal) para *E. arcuatus*, distinguiéndose claramente de los de *E. ensis*, que presenta una curvatura mayor.
- Las relaciones L-A y L-Am son isométricas, lo que significa que el incremento de longitud es proporcional al incremento de la anchura, es decir, no existe un adelgazamiento de los ejemplares con el incremento de la talla. Según esto, la relación entre la longitud y el ancho se pueden considerar como una característica más que contribuye a la diferenciación entre especies del género *Ensis*.

Las relaciones de longitud, ancho y ancho medio de los ejemplares muestreados es la siguiente:

Cociente	n	Media	Desviación típica (SD)	Mínimo	Máximo
L/A	276	8,01	0,46	6,49	9,40
L/Am	276	7,07	0,35	6,06	8,36

- Otro de los parámetros utilizados para distinguir las especies del género *Ensis* es el cociente entre la longitud y el ancho medido en la zona media. Los resultados del cociente L/Am se sitúan en el rango más próximo al expuesto para *E. arcuatus*.
- El análisis morfológico de valvas de *E. ensis* y *E. arcuatus* y su comparación con la navaja objeto de estudio completan la fase de identificación, permitiendo indicar la coincidencia con características de la especie *E. arcuatus*. Las diferencias fundamentales radican en la redondez del borde anterior, el marcado afilamiento del borde posterior y el mayor nivel de curvatura observadas en *E. ensis*.

Estudio de crecimiento de la navaja

A finales de abril de 1999, a partir de los reproductores de *E. arcuatus* trasladados al criadero días antes, tiene lugar la puesta. La metamorfosis larvaria ocurre a los 19-20 días.

En la siguiente tabla se muestran las fases de crecimiento de *E. arcuatus* hasta alcanzar la talla comercial:

Fase	Características	Edad	Talla
Criadero	Larva natátil	6 días	200 μ m
Criadero	Post-larva	20 días	400 μ m
Semillero	Semilla	1 mes	10 mm
Semillero	Semilla	3 meses	30 mm
C. Exterior	Adultos	1 año	60-70 mm
C. Exterior	Talla comercial	2 años	100 mm

El crecimiento en peso, presenta un modelo exponencial, $\ln Y = 2,66 + (-400,39/t)$ con una mayor dispersión en los datos conforme avanzan los meses. A principios de mayo de 2000, al año de edad, alcanzan un peso medio de $5,3 \pm 1,0$ g y al año y medio $6,0 \pm 0,8$ g.

Los juveniles trasladados en primavera, a las jaulas enterradas en intermareal, tienen una talla media de $65,0 \pm 7,7$ mm y un peso medio de $3,5 \pm 1,2$ g (abril de 1999).

Durante primavera y verano tiene lugar un crecimiento significativo, alcanzando en septiembre de 1999 una longitud media de $85,3 \pm 7,1$ mm y un peso de $9,5 \pm 2,1$ g. A principios de abril de 2000 (un año después del traslado) la longitud media es de $94,3 \pm 6,3$ mm y el peso $13,2 \pm 2,1$ g.

Estudio reproductivo

El ciclo reproductivo de la navaja (*E. arcuatus*) en los bancos de Cíes (Ría de Vigo), Aldán (Ría de Pontevedra) y Meáns (Ría de Arousa), y del longueirón (*Ensis siliqua*) en Finisterre, es un ciclo anual, compuesto por una fase de reposo, seguida de una intensa y rápida gametogénesis, para dar lugar a la época de puestas.

Comparativamente, el ciclo reproductivo de la navaja del banco natural de Cíes presenta la fase de reposo durante los meses de verano, y hay una sucesión de puestas y restauraciones en invierno y primavera; la navaja de Aldán parece seguir un comportamiento similar, aunque no se poseen datos suficientes para corroborarlo, y la navaja de Meáns parece presentar un periodo de reposo algo más extenso con puestas entre marzo y junio.

Por otro lado, el longueirón en Finisterre se encuentra en reposo sexual durante el verano y el otoño, realizando una única puesta a finales de primavera.

La ausencia de células de reserva en el tejido de la gónada y la gran cantidad de hemotocitos observados en los cortes histológicos realizados, a diferencia de lo que ocurre en la mayoría de los bivalvos, sugiere la directa participación de estas células móviles en el transporte de nutrientes a la gónada desde otros tejidos, para sostener el desarrollo gonadal en ambas especies de solénidos.

Estudio bioquímico de la navaja en la Ría de Vigo

La integración de los resultados de la evolución del ciclo gametogénico de *E. arcuatus* permite un conocimiento más profundo de la estrategia reproductiva de la especie.

Durante la época de reposo sexual (verano - otoño) tiene lugar un almacén de reservas, debido al incremento de la abundancia de alimento en el medio consecuencia de la sucesión de blooms fitoplanctónicos, en forma de lípidos (principalmente triglicéridos) en la glándula digestiva y de glucógeno en los tejidos musculares, con el consiguiente ascenso en el índice de condición de estos órganos.

Al término de la época de blooms fitoplanctónicos se inicia una intensa actividad gametogénica en la gónada por la división de gonias y espermatoцитos, con el progresivo aumento del volumen de los folículos y el incremento en el número de gametos maduros. La escasez de alimento en el medio, en estos momentos, supone que, tanto el desarrollo de la gónada como el mantenimiento del metabolismo basal, se hace en base a la utilización de las reservas acumuladas en meses anteriores, lo que explica el descenso de los niveles de lípidos en la glándula digestiva y de glucógeno en el músculo aductor anterior y pie.

El comienzo del desarrollo gonadal en el mes de noviembre coincide con el fin de los fenómenos de afloramientos, la mezcla vertical de la columna de agua, el descenso de la temperatura media y el descenso de la abundancia de alimento. Por el contrario, el comienzo de la época de sucesión de afloramientos induce al final del ciclo gametogénico y a la paralización de la actividad gonadal para dar comienzo a la activa acumulación de reservas en los tejidos somáticos.

Por último, los requerimientos energéticos para el mantenimiento del metabolismo basal, corren a cargo fundamentalmente de las reservas de glucógeno y de forma secundaria de las reservas de lípidos.

Conclusiones:

Identificación de la especie de navaja de la Ría de Vigo

El estudio comparativo realizado, tanto a nivel biométrico como morfológico, permite identificar como *E. arcuatus* a la especie de solénido objeto de estudio.

Estudio de crecimiento de la navaja

La talla de los individuos reclutados del medio natural al inicio de la experiencia, en abril de 1999, corresponde a especímenes con un año de vida ($65,0 \pm 7,7$ mm), según los resultados obtenidos en el seguimiento de semilla obtenida en criadero. Teniendo en cuenta esta consideración, y en función de la talla alcanzada un año después del traslado, se puede concluir que la talla media alcanzada a los dos años de vida se sitúa en torno a $94,3 \pm 6,3$ mm. Así pues, los resultados obtenidos en las condiciones descritas, indican que la talla media de *E. arcuatus* a los dos años se localiza entre 90 y 100 mm de longitud.

Estudio reproductivo

El ciclo reproductivo tanto de la navaja como del longueirón es un ciclo anual.
Estudio bioquímico de la navaja de la Ría de Vigo

E. arcuatus acumula reservas en los meses previos a la gametogénesis, cuando el alimento es abundante en el medio, y los moviliza posteriormente, a medida que tiene lugar el desarrollo gonadal. Por lo que, se puede decir que esta especie sigue una estrategia “conservadora”, en relación a la reproducción, al igual que otras especies de bivalvos como puede ser *Ruditapes decussatus* y difiere de otras oportunistas como *O. edulis*.

COMENTARIOS FINALES.

A partir de semilla obtenida en criadero, con progenitores del banco natural de las Islas Cíes, de la especie de navaja que se identifica como *Ensis arcuatus*, se estudió el crecimiento de esta especie concluyendo, que alcanzan la talla comercial (100 mm) a partir de los dos años de cultivo.

El ciclo reproductivo de la navaja es anual, con fase de reposo durante los meses de verano – otoño, puestas sucesivas y restauración en invierno y primavera. El ciclo reproductivo del longueirón también es anual pero con una fase de reposo más amplia durante el verano y el otoño, al que sigue una intensa gametogénesis en invierno que da lugar a una única puesta a finales de primavera.

La puesta a punto de las técnicas de puesta inducida en criadero, desarrolladas a lo largo del proyecto, para la obtención de semilla de navaja y longueirón, abre la posibilidad de producir semilla, con destino a siembras y repoblaciones en el medio natural.

DIFUSIÓN; PUBLICACIONES DEL PLAN.

- Se publica el artículo “Somatic condition indexes of the razor clams (*Ensis ensis*): Relation with amount of phytoplankton” en la revista Aqua 2000.
- Publicación en la monografía N°4, Convergencia entre Investigación y Empresa: Un reto para el Siglo XXI del Instituto Canario de Ciencias Marinas “Estudio del ciclo reproductivo de la navaja (*Ensis ensis*) en las Islas Cíes”.
- Publicación del Acta Parasitológica Portuguesa en la Revista da Sociedade Portuguesa de Parasitología con el nombre “Descripción de los principales problemas patológicos en navaja (*Ensis arcuatus*) y longueirón (*Ensis ensis*) de Galicia”.

- Publicación del Acta Parasitológica Portuguesa en la Revista da Sociedade Portuguesa de Parasitología con el nombre “Presencia de nematopsis y tremátodos en gónada de dos especies de Solenácea: *Ensis arcuatus* *Ensis siliqua*”.
- Comunicación presentada al X Simposio Ibérico de Estudos de Bentos Marinho. Algarve (Portugal) con el nombre “Análisis de artes y técnicas extractivas de solénidos en Galicia”.
- Comunicación presentada al Congreso Aquaculture and Water. Fish culture, shellfish culture and water usage celebrado en Burdeos (Francia) con el nombre “Analysis of the extractive techniques for commercial razor clams (*Ensis ensis* and *Ensis siliqua*) in the Rias Baixas of Galicia”
- Comunicación presentada al VII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en mayo de 1999 en Las Palmas de Gran Canaria con el nombre “Estudio del ciclo reproductivo de la navaja (*Ensis ensis*) en las Islas Cíes”.
- Comunicación presentada al Congreso Aqua 2000 celebrado en Niza (Francia) con el nombre “Somatic condition indexes of the razor clams (*Ensis ensis*)”.
- Comunicación presentada al XI Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marinos celebrado en el año 2000 en Málaga con el nombre “Índice de condición gonadal de la navaja (*Ensis ensis*): Relación con el índice de condición somático y abundancia de fitoplancton”.
- Comunicación presentada al Congreso Workshop on new species for aquaculture celebrado en el año 2000 en Faro (Portugal) con el nombre “Commercial razor clams in Galicia: The new candidates for the shellfish-culture”.
- Comunicación presentada al V Congreso de Ciencias del Mar celebrado en el año 2000 en La Habana (Cuba) con el nombre “Estudio del crecimiento de la navaja (*Ensis arcuatus*) en Galicia”.
- Comunicación presentada al VIII Congreso Nacional de Acuicultura celebrado en el año 2001 en Santander con el nombre “Características biométricas de dos especies comerciales de solénidos: navaja (*Ensis arcuatus*) y longueirón (*Ensis siliqua*)”.
- Se han publicado tres trabajos en las publicaciones especiales de la European Aquaculture Society (EAS), nº: 26; 28; 32.
- Comunicaciones presentadas al VII Congreso Ibérico de Parasitología celebrado en Porto (Portugal) en el año 2001:
 - “Presencia de nematopsis y trematodos en gónada de dos especies de Solenacea: *Ensis arcuatus* y *Ensis siliqua*”.
 - “Descripción de los principales problemas patológicos en navaja (*Ensis arcuatus*) y longueirón (*Ensis siliqua*) en Galicia”.