

JACUMAR (JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS)

PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS



INFORME FINAL

Título: Optimización del engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*).
Financiación: 2007-2009.

PARTICIPANTES:

Proyecto: Optimización del engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*)

Coordinador: Benjamín García García (IMIDA, Murcia)

**Subproyecto 1:
Desarrollo de dietas artificiales.**

Subcoordinador:
Jesús Cerezo Valverde
(IMIDA, Murcia)

**Subproyecto 2:
Optimización de las técnicas
de engorde en tanques y jaulas.**

Subcoordinador:
Juan Socorro Cruz
(ICCM, Canarias)

**Subproyecto 3:
Engorde industrial y
sostenibilidad de la actividad.**

Subcoordinador:
Salvador Guerrero Valero
(CIMA, Galicia)

Participante	Comunidad Autónoma	Centro	Investigador Responsable
1	Andalucía	IFAPA:	J.L. Muñoz Pérez
1A		IFAPA "Agua del Pino"	P.M. Rodrigues dos Santos Domingues
1B		CIFAP El Toruños	José L. Muñoz Pérez
2	Asturias	CEP	C. Rodríguez Rodríguez
3	Canarias	ICCM-ULPGC	J. Socorro Cruz
4	Cataluña	IRTA	J.I. Gairin Delofeu
5	Galicia	CIMA	Salvador Guerrero Valero
5A		USC	M.C. Pascual López
5B		USC	M. Rey-Méndez
6	Murcia	IMIDA	J. Cerezo Valverde
7	Valencia	UPV	Miguel Jover Cerdá

Relación de Investigadores:

Participante 1. C.A. de Andalucía.

Investigador Coordinador: José Luís Muñoz Pérez.
A. Grupo de Investigación: IFAPA centro “Agua del Pino”.
Investigador Responsable: Pedro Miguel Rodrigues dos Santos Domingues.
Investigadores:
Sandra García Garrido
Diego Garrido Lorenzo
Daniel Quintana Cobo.

B. Grupo de Investigación. IFAPA centro “El Toruño”
Investigador Responsable: José Luís Muñoz Pérez.
Investigadores:
Ignacio Pozuelo Díaz.

Participante 2. C.A. de Asturias.

Grupo de Investigación: Centro de Experimentación Pesquera.
Investigador Responsable: Carmen Rodríguez Rodríguez.
Investigadores:
José Francisco Carrasco Fidalgo.
María López Martín.

Participante 3. C.A. de Canarias.

Grupo de Investigación: ICCM-ULPGC.
Investigador Responsable: Juan Antonio Socorro Cruz.
Investigadores:
Francisco Javier Roo Filgueira.
María Soledad Izquierdo López.
Hipólito Fernández-Palacios Barber.
Juan Estefanell Ucha.

Participante 4. C.A. de Cataluña.

Grupo de Investigación: IRTA.
Investigador Responsable: Joan Ignasi Gairin Delofeu.
Investigadores:
Cristóbal Aguilera Jiménez.
Neil John Duncan.
Kart Andree
Ricard Carbó Bacaicoa.

Participante 5. C.A. de Galicia.

Investigador Coordinador: Salvador Guerrero Valero (Centro de Investigaciones Marinas)
A. Grupo de Investigación: Equipo de Sistemática Molecular Universidad de Santiago de Compostela.

Investigador Responsable: Manuel Rey-Méndez.

Investigadores:

Javier Quintero Vázquez.

Iria Fernández Silva

Jorge Rodríguez Castro

Pedro Fernandes Seixas.

B. Grupo de Investigación: Tecnología de Productos Pesqueros, Universidad de Santiago de Compostela.

Investigadora Responsable: Maria Cruz Pascual López.

Investigadores:

Carlos José Rodríguez Vázquez.

María Dolores Brea Fernández

Participante 6. C.A. de Murcia.

Grupo de Investigación: IMIDA.

Investigador Responsable: Jesús Cerezo Valverde.

Investigadores:

Benjamín García García.

José García García.

María Dolores Hernández Llorente.

Felipe Aguado Giménez.

Participante 7. C.A. de Valencia.

Grupo de Investigación: Grupo de Investigación de Acuicultura y Biodiversidad. UPV.

Investigador Responsable: Miguel Jover Cerdá.

Investigadores:

Ana Tomas Vidal.

Silvia Martinez Llorens.

Andrés Vicente Moñino López.

Pablo Querol Ordóñez.

ÍNDICE:	Pág.
1. Resumen.	9
2. Subproyecto 1: " Desarrollo de dietas artificiales".	
2.1. Análisis bioquímicos	
2.1.1. Tipos de análisis, origen de las muestras y laboratorios. (Todos los participantes)	13
2.1.2. Ejercicio de intercomparación de análisis de macronutrientes entre los distintos laboratorios.	15
IMIDA (Murcia); ICCM (Canarias); IRTA (Cataluña); ETTP-USC (Galicia); GAB-UPV (Valencia).	
2.1.3. Macronutrientes.	19
IMIDA (Murcia); ICCM (Canarias); IRTA (Cataluña); ETTP-USC (Galicia); GAB-UPV (Valencia).	
2.1.4. Aminoácidos.	21
GAB-UPV (Valencia).	
2.1.5. Clases de lípidos.	32
IMIDA (Murcia).	
2.1.6. Ácidos grasos.	54
ICCM (Canarias); ESM-USC (Galicia).	
2.1.6. Colesterol.	58
ETTP-USC (Galicia).	
2.1.7. Minerales.	61
IMIDA (Murcia)	
2.2. Digestibilidad.	
2.2.1. Bioquímica digestiva del pulpo.	66
GAB-UPV (Valencia).	
2.2.2. Evaluación <i>in vitro</i> de la digestibilidad de ingredientes proteicos por las enzimas del pulpo.	70
GAB-UPV (Valencia).	
2.2.3. Caracterización de la actividad enzimática del jugo gástrico del pulpo a distintos pH. Digestibilidad <i>in Vitro</i> de distintas dietas, con jugo gástrico de pulpo.	74
IFAPA "Agua del Pino". (Andalucía).	
2.2.4. Digestibilidad de una dieta artificial utilizando como aglutinante alginato en el pulpo de roca.	79
IMIDA (Murcia).	
2.2.5. Efecto del contenido en lípidos de dietas naturales sobre la digestibilidad de proteína y lípidos en el pulpo común.	91
IMIDA, C.A. de Murcia.	

2.3. Dietas artificiales de aspecto gomoso-gelatinoso.

2.3.1. Actividades desarrollados en el IFAPA “Agua del Pino” (Andalucía)

2.3.1.1. Efecto de dietas artificiales basadas en pasta de calamar o camarón y aglutinadas con gelatina, sobre el crecimiento del pulpo común.	97
2.3.1.2. Efectos de dietas artificiales preparadas con dos aglutinantes y distintas concentraciones de hidrolizado de pescado (CPSP 90®) en el crecimiento y composición lipídica de la glándula digestiva del pulpo.	99
2.3.1.3. Crecimiento, balance energético, composición lipídica del manto y de la glándula digestiva de <i>Octopus vulgaris</i> (Cuvier, 1797) alimentado con dietas artificiales utilizando aglutinantes distintos.	107
2.3.1.4. Efecto de dietas artificiales, con y sin atrayente, sobre el crecimiento del pulpo común.	118
2.3.1.5. Efecto del ayuno sobre el contenido en lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos del manto y glándula digestiva del pulpo.	121

2.3.2. Actividades desarrolladas en el ICCM (Canarias).

2.3.2.1. Elección de un aglutinante: estabilidad y aceptación.	125
2.3.2.2. Adición de calcio y aglutinantes comerciales.	129
2.3.2.3. Optimización del espacio y elección del sistema de cultivo individual.	130
2.3.2.4. Selección del origen de la boga (descarte o salvaje) como base para la elaboración del pienso.	131
2.3.2.5. Evaluación del efecto de la dieta de descartes sobre sub-adultos.	137
2.3.2.6. Utilización de cangrejo como atrayente y empleo de harinas en un pienso de boga de descarte para pulpo común.	141
2.3.2.7. Pruebas de aceptación de dietas en colaboración con otros grupos de investigación.	145

2.3.3. Actividades desarrolladas en el IMIDA (Murcia)

2.3.3.1. Crecimiento y eficiencia de alimentación del pulpo de roca alimentado con dos dietas formuladas.	149
2.3.3.2. Efecto de la suplementación con colesterol y complejo vitamínico-mineral en dietas formuladas para el engorde del pulpo de roca.	160
2.3.3.3. Rendimiento de dietas formuladas con distintos niveles de grasa y suplementación de glutamato en el pulpo de roca.	164
2.3.3.4. Influencia de una dieta artificial suplementada con arginina sobre el crecimiento, la eficacia alimentaria y la composición corporal en el pulpo común. ...	188

2.4. Desarrollo de pienso semihúmedo a partir de ensilado y pasta de pescado (ETPP-USC y CIMA, Galicia).

2.4.1. Ensilados y pasta de pescado: Introducción.	207
2.4.2. Desarrollo de ensilados de subproductos de la industria pesquera.	208
2.4.3. Desarrollo de cebos a base de ensilado y pasta de pescado con hidrocoloides de	

naturaleza glucídica para pruebas de engorde.	214
2.4.4. Desarrollo de cebos a base de pasta de pescado en frío para engorde de pulpo.	224
2.5. Desarrollo de piensos extrusionados (UPV, Valencia)	
2.5.1. Fabricación y aceptabilidad de piensos extrusionados en acuarios y jaulas.	249
2.5.2. Fabricación y aceptabilidad de piensos extrusionados en tanques.	258
2.5.3. Engorde con dietas experimentales.	264
2.5.4. Optimización del engorde con dietas extrusionadas.	275
3. Subproyecto 2: " Optimización de las técnicas de engorde en tanques y jaulas"	
3.1. Dietas naturales y piensos semihúmedos.	
3.1.1. Boga de descartes procedente del engorde de dorada en jaulas flotantes. ICCM (Canarias).	290
3.1.2. Utilización de presas alternativas (cangrejo de río, <i>Procambarus clarki</i> y merluza, <i>Merluccius gayi</i>) para el cultivo del pulpo. IFAPA "Agua del Pino" (Andalucía).	291
3.1.3. Experiencias de engorde con monodietas naturales de lirio (<i>Micromesistius poutassou</i>) y de mejillón (<i>Mytilus edulis</i>) y dietas mixtas con lirio, mejillón y cangrejo (<i>Carcinus maenas</i>). CEP (Asturias).	296
3.1.4. Alimentación con productos pesqueros alternativos a los ya utilizados: Lisa. IRTA (Cataluña)	305
3.1.5. Experiencia de engorde con distintos tipos de cebos preparados por ensilaje. CEP (Asturias).	310
3.1.6. Experiencias de engorde de juveniles de pulpo con piensos a base de alginatos como aglomerante-gelificante. CEP (Asturias).	313
3.1.7. Experiencia de engorde con pienso semihúmedo (cebo). IRTA (Cataluña)	320
3.2. Optimización parámetros de engorde en tanques.	
3.2.1. Desarrollo de ecuaciones para estimar el caudal en tanques de engorde de pulpo de roca.	336
3.2.2. Régimen de temperatura. IRTA (Cataluña)	349
3.2.3. Efecto de la densidad de cultivo en tanques.	353
3.2.3.1. Efecto de tres densidades de cultivo en el crecimiento y supervivencia del pulpo en tanques de 2 m ³ IFAPA "Agua del Pino" (Andalucía)	353
3.2.3.2. Carga óptima. IRTA (Cataluña)	355
3.2.4. Efecto de la salinidad. IRTA (Cataluña)	362

4.2.5. Efecto de la maduración sexual.	365
3.2.5.1. Determinación de los periodos de maduración gonadal durante el proceso de engorde y efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento y la maduración en el Delta del Ebro.	365
IRTA (Cataluña).	
3.2.5.2. Determinación de los periodos de maduración gonadal durante el proceso de engorde y efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento y la maduración en Canarias. ...	384
ICCM (Canarias).	
3.2.5.3. Efecto de la alimentación con boga de descarte en la maduración sexual en el pulpo común.	392
ICCM (Canarias)	
3.3. Optimización de parámetros de engorde en jaulas.	
3.3.1. Ensayos de engorde en jaulas en Canarias.	396
ICCM (Canarias)	
3.3.1.1. Efecto de la dieta y la densidad inicial.	396
3.3.1.2. Efecto de dos sistemas de cultivo: individual y grupal.	402
3.3.1.3. Efecto de dos sistemas de cultivo en pulpos macho: efecto de la talla inicial y de la dieta.	404
3.3.1.4. Evaluación de jaulas bentónicas en el engorde de pulpo.	408
3.3.2. Efecto de la separación por tamaños y por sexos sobre el crecimiento y la supervivencia.	411
ESM-USC y CIMA (Galicia)	
3.3.3. Evaluación de la viabilidad de un sistema de engorde en jaula en el puerto pesquero de Conil de la Frontera (Cádiz).	428
IFAPA Centro “El Toruño” (Andalucía)	
3.3.4. Ensayo de engorde en jaulas en Valencia.	441
UPV (Valencia).	
3.4. Economía.	
3.4.1 Viabilidad/rentabilidad económica de explotaciones de pulpo en jaulas en función del número de ciclos de producción anual.	447
IMIDA (Murcia).	
3.4.2 Análisis económico del engorde de pulpo en estanques en tierra.	460
UPV (Valencia).	
3.5. Atlas histológico comparativo entre individuos sanos y posibles enfermos bajo condiciones de cultivo.	464
IRTA (Cataluña).	
4. Subproyecto 3. “Engorde industrial de pulpo y sostenibilidad de la actividad”.	481
ESM-USC y CIMA (Galicia)	

1. Resumen.

OBJETIVOS

- Desarrollo de dietas artificiales.
- Optimización de las técnicas de engorde en tanques y jaulas.
- Desarrollar un modelo de “jaulas maternidad” con el objeto de contribuir a la repoblación del medio natural.

METODOLOGÍA

El proyecto para su desarrollo se subdividió en tres subproyectos:

Subproyecto 1. Desarrollo de dietas artificiales.

Para tener una primera información sobre los requerimientos nutricionales de esta especie se realizaron análisis del contenido nutritivo detallado de los tejidos del pulpo, de las dietas naturales que se habían empleado con anterioridad y de las empleadas en el presente proyecto, así como también de las materias primas (harinas) empleadas en la elaboración de las dietas artificiales. También se realizaron estudios de la fisiología digestiva del pulpo y en particular de la forma en que operan las enzimas digestivas, así como también de la digestibilidad de proteínas y lípidos de dietas naturales y artificiales.

Se desarrollaron distintas formulaciones siguiendo diferentes procedimientos (ensilado y pastas de pescado; dietas de textura gomosa aglutinados con distintos productos; y extrusionados), en una primera fase se realizaron pruebas de estabilidad de las dietas y de aceptabilidad de las mismas por parte del pulpo de forma paralela e independiente, y en aquellos casos en que se han obtenido resultados positivos se han llevado a cabo experimentos para analizar la inclusión de distintas materias primas, atractantes, aminoácidos, etc.

Subproyecto 2. Optimización de las técnicas de engorde en tanques y jaulas.

Se han abordado determinados factores que aún no estaban totalmente resueltos en la fase de engorde y que afectan al crecimiento y la supervivencia, tales como la carga de cultivo, supervivencia, dispersión de tamaños, separación por sexos, maduración gonadal, etc. Para ello se han realizado ensayos tanto en tanques, por lo general utilizando réplicas, como en jaulas abordando en estas últimas diseños distintos a los utilizados hasta ahora y que contribuyen a mejorar los rendimientos. También se ha realizado un atlas histológico comparativo entre individuos sanos y posibles enfermos bajo condiciones de cultivo. En base al conocimiento actual se ha realizado una analítica de costes para valorar económicamente la viabilidad/rentabilidad de este tipo de explotaciones y a partir de ésta se han identificado los costes de producción que mayor repercusión tienen.

Subproyecto 3. Engorde industrial del pulpo y sostenibilidad de la actividad.

Se ha utilizado un modelo de jaulas para hembras con puestas, que permitan la incubación de los huevos hasta la eclosión y liberación de las paralarvas en el medio para repoblación. Para evaluar la eficacia de esta medida se determinó genéticamente la población natural, los progenitores y huevos de pulpo incubados y posteriormente los potenciales individuos repobladores, haciendo un seguimiento genético que permitiera relacionar la eficacia del programa de repoblación.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Subproyecto 1. Desarrollo de dietas artificiales.

Se ha obtenido una base de datos importante de la composición nutritiva de dietas naturales y harinas utilizadas usualmente en la elaboración de piensos (proteína y lípidos totales, aminoácidos, clases lipídicas, ácidos grasos, colesterol y minerales), que junto con la composición de los distintos tejidos del pulpo y los estudios de digestibilidad enzimática permiten interpretar resultados de ensayos de engorde y plantear hipótesis en cuanto a la formulación de dietas para el pulpo de roca. De todas las dietas artificiales ensayadas dos particularmente han superado las pruebas de estabilidad y aceptación y han permitido realizar ensayos de crecimiento con resultados positivos (que son los primeros para esta especie) aunque nunca se han obtenido los valores máximos que esta especie puede alcanzar. Una de estas dietas, que denominamos de aspecto gomoso, está basada en pastas de pescado aglutinadas con alginato y la otra con gelatina sin tratamiento térmico y pasta de calamar. También se han conseguido un crecimiento significativo con una dieta seca extrusionada a base de harina de krill, trigo, gelatina y malto-dextrina.

Subproyecto 2. Optimización de las técnicas de engorde en tanques y jaulas.

De las monodietas con productos naturales los mejores resultados (crecimiento, índice de conversión y supervivencia) y similares a los obtenidos con la dieta control (boga-cangrejo), fueron obtenidos con la boga de descarte (o de cultivo) y con el lirio. La temperatura óptima para esta especie se confirma entre los 15 y 24°C; salinidades situadas entre el 29 y 34 ‰ no afectan a los rendimientos, y tampoco densidades de cultivo iniciales de 15 Kg/m³ y 60 Kg/m³ finales.

En jaulas la separación por sexos no parece ofrecer ventajas significativas, pero la selección por tamaños a simple vista de los ejemplares al inicio del engorde sí mejora los rendimientos. En el cultivo en jaulas, con las características de las aguas Canarias, se recomienda no exceder las 8 semanas de cultivo y partir de una densidad inicial de 10 kg/m³, lográndose con ello el óptimo crecimiento y supervivencia. En general, la mortalidad se relaciona con la temperatura de cultivo, con la duración de la fase de agrupación de stock y con la longevidad de los ejemplares. La jaula bentónica generó un incremento de biomasa superior a las experiencias en jaulas flotantes, lo que da lugar a un prometedor sistema de cultivo para esta especie.

La estructura de costes de una explotación hipotética de engorde de pulpo refleja una actividad intensiva con un inmovilizado (costes debidos a la inversión) relativamente importante, especialmente cuando se realiza un solo ciclo de producción al año, frente a dos ciclos de producción, ya que infrautiliza la inversión y esto determina que el inmovilizado alcance el 25% del coste de producción. Los costes más elevados y, por tanto, con más importancia económica son la alimentación (38,57% y 40,03%, uno y dos ciclos de producción respectivamente), el inmovilizado (25,26% y 17,47%, respectivamente), los juveniles (16,65% y 23,02%, respectivamente) y en cuarto lugar los costes salariales (14,34% y 15,60%, respectivamente).

Subproyecto 3. Engorde industrial del pulpo y sostenibilidad de la actividad.

El uso de "jaulas maternidad" en las instalaciones de engorde de pulpo, permitiría la liberación al medio de una gran cantidad de paralarvas, así como el incremento de las pesquerías. La primera evidencia de múltiple paternidad en el superorden Octobranchia, es de gran importancia y debe ser considerada en los estudios de genética de poblaciones y de conservación, así como en el diseño y manejo de la acuicultura de *O. vulgaris*. La paternidad múltiple puede representar un proceso que maximiza la recombinación genética con los múltiples machos en un único acontecimiento reproductivo.

2. Subproyecto 1. DESARROLLO DE DIETAS ARTIFICIALES.

2.1. Análisis bioquímico.

2.1.1. Tipos de análisis, origen de las muestras y laboratorios.

Todos los participantes del proyecto.

El objetivo de esta actividad fue determinar la composición en proteína bruta y perfil de aminoácidos; lípidos totales, clases lipídicas, ácidos grasos y colesterol; y minerales en el pulpo y en alimentos naturales y materias primas para la elaboración de piensos. En la tabla 1 se muestran el origen de las muestras analizadas.

Tabla 1. Especies y harinas analizadas y origen de las muestras.

	Especie	Origen
Moluscos:		
Pulpo (1)	<i>Octopus vulgaris</i>	Murcia
Mejillón	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Asturias, Galicia y Murcia
Calamar	<i>Loligo gahi</i>	Andalucía
Pota (2)	<i>Todarodes sp.</i>	Galicia
Crustáceos:		
Langostino (3)	<i>Penaeus sp.</i>	Galicia
Patexo	<i>Polybius heslowi</i>	Galicia
Cangrejo	<i>Carcinus maenas</i>	Asturias y Murcia
Cangrejo de río	<i>Procambarus clarkii</i>	Andalucía
Peces:		
Bacaladilla	<i>Micromesistius poutassou</i>	Asturias y Galicia
Boga	<i>Boops boops</i>	Canarias y Murcia
Boga de cultivo	<i>Boops boops</i>	Canarias y Murcia
Jurel	<i>Trachurus trachurus</i>	Asturias
Lisa	<i>Mugil sp</i>	Cataluña
Móllera	<i>Trisopterus minutus</i>	Cataluña
Sardina	<i>Sardina pilchardus</i>	Murcia
Harinas:		
Girasol		Valencia
Gluten		Valencia
Soja		Valencia
Trigo		Valencia
Proteína de gisante 75		Valencia
Krill		Valencia
Pescado		Valencia y Canarias

De todas las especies se analizó la fracción comestible salvo: (1): ejemplar completo, músculo, glándula digestiva y gónada; (2): aletas y tentáculos; (3): cabezas.

Todos los análisis de las distintas especies se realizaron en invierno y verano y procedentes del medio natural, salvo la boga de cultivo que procede de las jaulas de engorde industrial de dorada y lubina; también en este documento se le denomina como boga de descarte. En el pulpo se analizaron muestras de animales completos, músculo (tentáculos), glándula digestiva y gónadas. La composición de los alimentos o ingredientes se determinó en la fracciones a utilizar, dependiendo de la naturaleza del producto: 1) fracción comestible en los organismos utilizados comúnmente en los distintos ensayos de engorde realizados hasta ahora (boga, sardina, cangrejo, mejillón, etc.); 2) materias primas o ingredientes a utilizar en la fabricación de piensos húmedos o secos (harinas de pescado, krill, soja, trigo, etc.); 3) descartes provenientes de la industria (aletas y tentáculos de pota, cabezas de langostinos, etc.), que podrán ser triturados directamente para obtención de pastas, o ensilados.

Los análisis de macronutrientes se realizaron por los distintos laboratorios (ICCM, IRTA, ETTP-USC, IMIDA, GAB-UPV), pero se realizó un ejercicio de intercomparación entre ellos. El resto de análisis, y para que los resultados fueran comparable, fueron realizados por cada laboratorio que asumió un análisis específico de todas las muestras. Concretamente, los aminoácidos fueron realizados por la UPV, ácidos grasos por el ICCM y ESM-USC, colesterol por la ETTP-USC y clases lipídicas y minerales específicos por el IMIDA.

2.1.2. Ejercicio de intercomparación de análisis de macronutrientes entre los distintos laboratorios.

IMIDA, C.A. de Murcia; ICCM, C.A. de Canarias; IRTA, C.A. de Cataluña; ETTP-USC, C.A. de Galicia; GAB-UPV, C.A. de Valencia.

Se llevó a cabo a partir de una muestra de lubina y otra de pulpo liofilizadas. Previamente, cada una de ellas fue triturada hasta obtener una muestra homogénea, se distribuyó en placas Petri y se congeló a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su liofilización (liofilizador Heto Power-Dry LL3000). Finalmente, las muestras se tamizaron y se guardaron en recipientes herméticos en la cámara frigorífica a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. A cada uno de los grupos participantes se les enviaron unos 15 g liofilizados de cada una de las muestras para la determinación de macronutrientes.

De cada muestra se ha analizado el contenido en humedad, proteína bruta, grasa y cenizas de dos muestras liofilizadas correspondientes a la parte comestible de lubina y pulpo. Las comunidades participantes han sido cinco: Canarias (ICCM), Cataluña (IRTA), Galicia (US), Murcia (IMIDA y Valencia (UPV). Los métodos utilizados han sido: la proteína por el método Kjeldahl, con un factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25; la grasa por extracción con éter de petróleo por el método Soxhlet, la humedad secando a $105\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante; y el total de ceniza por incineración a $450\pm 2^{\circ}\text{C}$ con un horno Mufla hasta peso constante. Para cada una de las determinaciones analíticas realizadas en este ejercicio, el correspondiente valor de referencia se ha establecido a partir de la media del conjunto de resultados. Asimismo la correspondiente variabilidad aceptable se ha establecido a partir de la desviación estándar del conjunto de resultados. Los resultados de los diferentes laboratorios para cada uno de los parámetros analizados se evalúa con una puntuación Z calculada a partir de:

$$Z=(x_i-\mu)/\sigma$$

donde x_i es el resultado obtenido por el laboratorio, μ es el valor asignado y σ es la desviación estándar que define la variabilidad aceptable. La interpretación de Z es la siguiente:

$|Z|<2$ satisfactorio

$2<|Z|<3$ cuestionable

$|Z|>3$ rechazable

En las Tablas 1 y 2 se muestran los resultados de los análisis hechos por las distintas Comunidades, tanto de la composición en macronutrientes de la muestra de lubina como la de pulpo. El valor $|Z|$ se encuentra para todos los macronutrientes y en todas las comunidades por debajo de 2, siendo en todos los casos un resultado satisfactorio (Tablas 3 y 4). Si bien, con el objetivo de optimizar tanto la reproducibilidad como la repetibilidad de los resultados se hacen las siguientes consideraciones. La cantidad de agua de las muestras es muy baja ya que se trata de muestras liofilizadas (Tablas 1 y 2), sin embargo, vemos que los valores más bajos y más altos se dan en las mismas comunidades. Galicia tiene los valores más altos y Murcia los más bajos (Tablas 3 y 4). Esto no debe ser fruto más que de el tiempo que se tardó en analizar la muestra desde que se recibió y de cómo se almacenó durante ese período. Al expresar y comparar los resultados en sustancia fresca estas diferencias en la determinación de la humedad se anulan.

Por otra parte, entre los macronutrientes analizados la mayor variabilidad la presentan los resultados de proteína y de grasa. El contenido de minerales totales para todas las comunidades es muy homogéneo (Tablas 1 y 2). Con respecto al contenido en proteína, Murcia obtiene para las dos muestras los valores más altos (Tablas 3 y 4) y se decide revisar el método y los factores que podrían influir en él. Con respecto a la grasa se observan dos subgrupos: Galicia y Canarias por un lado y Cataluña, Valencia y Murcia por otro. Estos grupos se invierten según la muestra analizada, valores más altos en un caso y más bajos en otro (Tablas 3 y 4). Se decide revisar las técnicas.

Tabla 1. Composición en macronutrientes de la muestra de lubina.

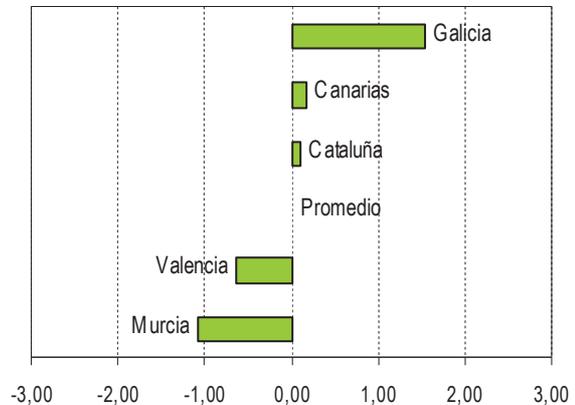
	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas
Canarias	2,45±0,08	63,12±0,07	27,37±0,11	3,76±0,21
Cataluña	2,34±0,07	58,54±0,50	32,53±0,09	3,70±0,02
Galicia	4,73±0,06	61,19±0,62	19,50±4,47	3,92±0,03
Murcia	0,38±0,14	66,39±0,12	29,87±0,64	4,26±0,29
Valencia	1,10±0,02	60,84±0,27	32,73±0,17	4,27±0,02
Promedio	2,16±1,66	61,77±2,82	29,34±5,39	4,01±0,28
	Materia seca	Proteína s.s.	Grasa s.s.	Cenizas s.s.
Canarias	97,55±----	64,71±----	28,06±----	3,85±----
Cataluña	97,66±0,07	59,94±0,50	33,31±0,10	3,79±0,02
Galicia	95,27±0,06	64,23±0,62	20,47±4,70	4,11±0,03
Murcia	99,62±0,14	66,64±0,18	29,99±0,61	4,27±0,28
Valencia	98,90±0,02	61,53±0,33	33,10±0,23	4,31±0,02
Promedio	97,84±1,66	63,21±2,63	29,13±5,58	4,10±0,25

Tabla 2. Composición en macronutrientes de la muestra de pulpo.

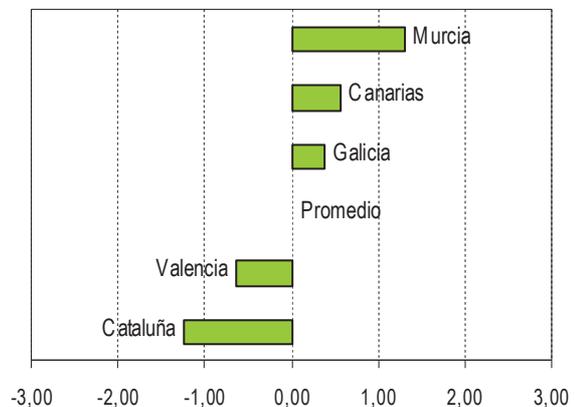
	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas
Canarias	3,71±0,13	82,34±0,59	3,36±0,09	11,26±0,13
Cataluña	2,94±0,09	82,24±0,48	0,93±0,12	11,70±0,03
Galicia	5,19±0,04	78,37±1,54	3,02±1,10	11,69±0,07
Murcia	2,68±0,09	85,70±0,82	1,40±0,38	11,03±0,49
Valencia	2,38±0,26	77,70±0,39	0,93±0,18	12,21±0,40
Promedio	3,33±1,12	80,86±3,32	1,56±1,04	11,62±0,51
	Materia seca	Proteína s.s.	Grasa s.s.	Cenizas s.s.
Canarias	96,29±----	85,51±----	3,49±----	11,69±----
Cataluña	97,06±0,09	84,73±0,44	0,95±0,12	12,06±0,03
Galicia	94,81±0,04	82,66±1,66	3,19±1,16	12,32±0,07
Murcia	97,32±0,09	88,06±0,87	1,43±0,39	11,33±0,51
Valencia	97,62±0,26	79,43±0,40	1,05±0,23	12,51±0,44
Promedio	96,67±1,12	83,86±3,28	1,80±1,15	12,03±0,53

Tabla 3. Muestra de lubina.

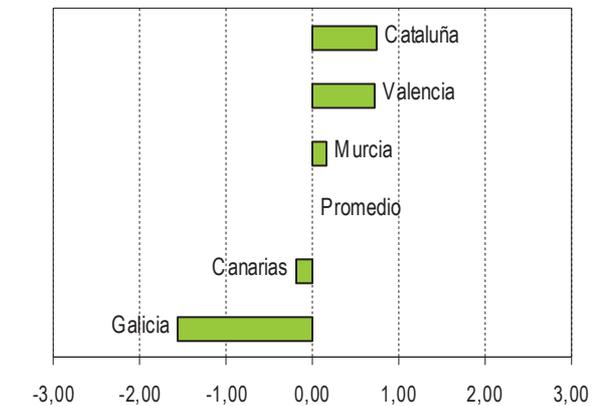
A.	Humedad	Z
Murcia	0,38	-1,07
Valencia	1,10	-0,64
Promedio	2,16	0,00
Cataluña	2,34	0,11
Canarias	2,45	0,17
Galicia	4,73	1,55



B.	Proteína s.s.	Z
Cataluña	59,94	-1,25
Valencia	61,53	-0,64
Promedio	63,21	0,00
Galicia	64,23	0,39
Canarias	64,71	0,57
Murcia	66,64	1,31



C.	Grasa s.s.	Z
Galicia	20,47	-1,55
Canarias	28,06	-0,19
Promedio	29,13	0,00
Murcia	29,99	0,15
Valencia	33,10	0,71
Cataluña	33,31	0,75



D.	Cenizas s.s.	Z
Cataluña	3,79	-1,26
Canarias	3,85	-0,99
Promedio	4,10	0,00
Galicia	4,11	0,05
Murcia	4,27	0,69
Valencia	4,31	0,85

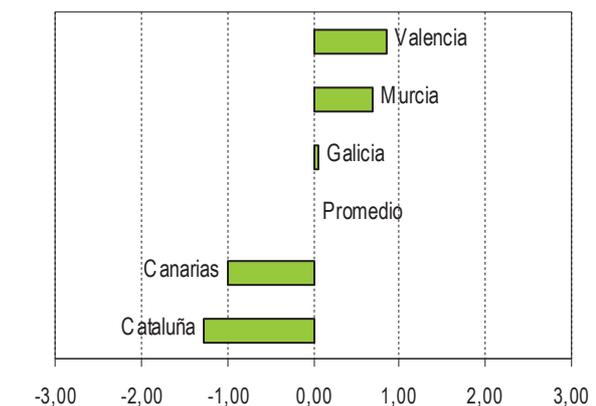
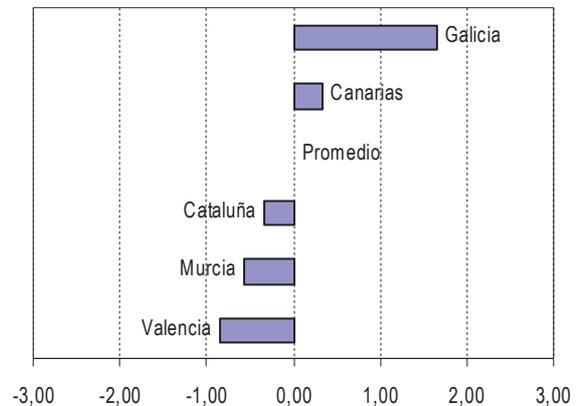
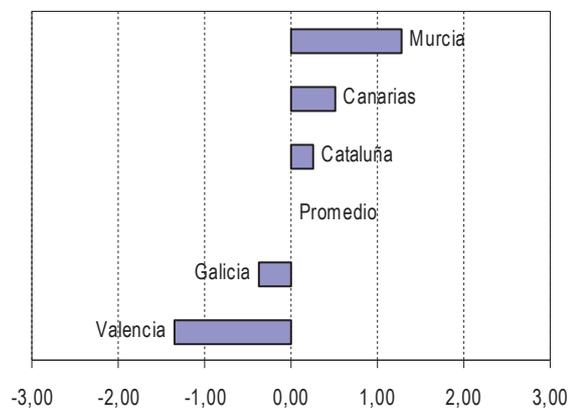


Tabla 4. Muestra de pulpo.

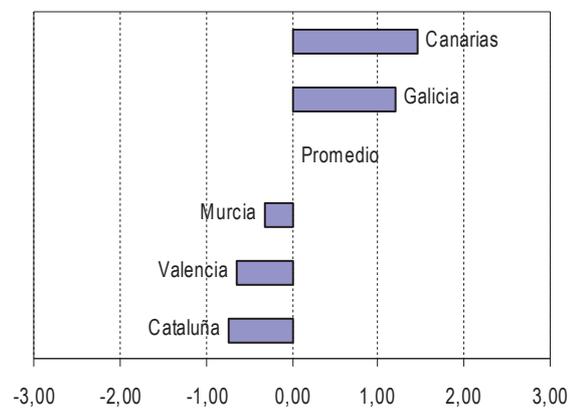
	Humedad	Z
Valencia	2,38	-0,85
Murcia	2,68	-0,58
Cataluña	2,94	-0,35
Promedio	3,33	0,00
Canarias	3,71	0,34
Galicia	5,19	1,66



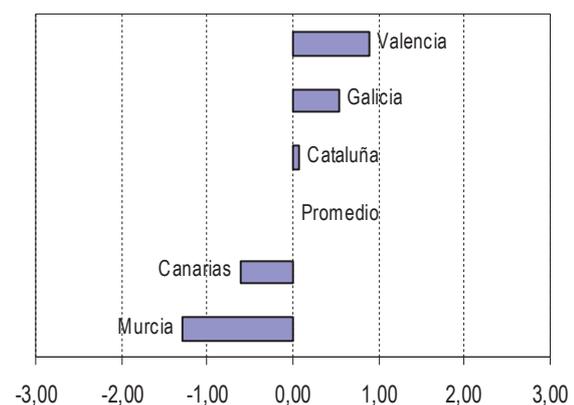
	Proteína s.s.	Z
Valencia	79,43	-1,35
Galicia	82,66	-0,37
Promedio	83,86	0,00
Cataluña	84,73	0,27
Canarias	85,51	0,50
Murcia	88,06	1,28



	Grasa s.s.	Z
Cataluña	0,95	-0,73
Valencia	1,05	-0,65
Murcia	1,43	-0,32
Promedio	1,80	0,00
Galicia	3,19	1,20
Canarias	3,49	1,46



	Cenizas s.s.	Z
Murcia	11,33	-1,30
Canarias	11,69	-0,62
Promedio	12,03	0,00
Cataluña	12,06	0,06
Galicia	12,32	0,54
Valencia	12,51	0,90



2.1.3. Análisis de macronutrientes.

IMIDA, C.A. de Murcia; ICCM, C.A. de Canarias; IRTA, C.A. de Cataluña; ETTP-USC, C.A. de Galicia; GAB-UPV, C.A. de Valencia.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

- **Crustáceos:** La humedad superó el 74,8 % en todas las muestras, con valores extremos del 86,5 % en el patexo (*Polybius henslowi*). El contenido en proteína osciló entre el 7 % en esta última especie y el 15,4 % en *Carcinus maenas*, el de lípidos entre el 1 y 1,7 % y el de minerales entre el 3,2 y 7,6 %.

- **Materias primas:** Se caracterizaron por su bajo contenido en humedad, inferior al 11 % en todos los casos, y elevado contenido en proteína. El mayor contenido en proteína se observó en las harinas de proteína de guisante (71,5 %) y pescado (69,5 %), y el menor en las de girasol (31,2 %) y trigo (11,2 %). La harina de krill presentó un elevado porcentaje de grasa (23,9 %) y minerales (9,8 %), los cuales mostraron valores máximos en las harinas de pescado (13,8-20,0 %).

- **Moluscos:** Presentan una humedad superior al 70 % y un contenido en proteína entre el 11 y 19 %. Los contenidos en grasa y minerales son bajos, sin superar el 3,1 % en ninguna de las muestras analizadas.

- **Peces:** El contenido en humedad osciló entre el 52 % (*Boops boops*, procedente de granjas de cultivo en Canarias) y 81 % (*Boops boops*, salvaje procedente de Murcia), relacionándose inversamente con el nivel lipídico de las especies. Éste fue muy variable, entre el 0,1 % en *Trisopterus minutus* y 28,3 % en *Boops boops*. El contenido en minerales osciló entre el 1,0 % (*Boops boops*) y el 5,6 % (*Mugil sp.*).

Tabla 1. Resultados de los análisis de macronutrientes en las muestras recogidas por las distintas CCAA.

GRUPO	NOMBRE	ESPECIE	CCAA	MUESTRA	HUMEDAD		PROTEINA		GRASA		MINERALES		MELN'		
					Verano	Invierno	Verano	Invierno	Verano	Invierno	Verano	Invierno	Verano	Invierno	
Crustáceos	Cangrejo	Carcinus maenas	Asturias	P. comestible	74.79	73.70	15.42	14.27	1.36	1.05	3.73	4.69	2.16	3.37	
	Cangrejo	Carcinus maenas	Murcia	P. comestible	80.15	81.98	11.35	10.94	1.67	1.67	4.67	3.24	2.16	2.16	
	Cangrejo de río	Procambarus clarkii	Andalucía	P. comestible	N.d.	81.35	N.d.	12.96	N.d.	1.09	N.d.	N.d.	3.94	N.d.	0.70
	Langostino	Penaeus sp.	Galicia	Cabezas	80.54	N.d.	11.08	N.d.	1.09	N.d.	4.79	N.d.	2.49	N.d.	
	Patexo	Polydora henslowi	Galicia	P. comestible	86.47	N.d.	6.98	N.d.	1.72	N.d.	3.86	N.d.	0.81	N.d.	
Materias primas	Harina de girasol		Valencia			9.30		31.25		1.07		6.21		52.17	
	Harina de gluten		Valencia			9.95		58.30		0.51		1.35		29.89	
	Harina de krill		Valencia			6.33		52.39		23.93		9.78		7.57	
	Harina de pescado		Canarias			6.90		66.00		7.20		20.00		0.00	
	Harina de pescado		Valencia			8.91		69.57		8.08		13.81		0.00	
	Harina de soja		Valencia			10.00		46.82		1.94		6.70		34.54	
	Harina de trigo		Valencia			10.30		11.19		1.81		1.58		75.12	
	Prot. Guisante 75		Valencia			8.90		71.54		4.23		4.10		11.23	
	Moluscos	Calamar	Loligo gahi	Andalucía	P. comestible	N.d.	80.27	N.d.	15.74		0.45		1.80		1.74
		Mejillón	Mytilus galloprovincialis	Asturias	P. comestible	82.41	79.80	12.70	13.19	0.70	0.83	2.24	2.35	1.95	3.82
Mejillón		Mytilus galloprovincialis	Galicia	P. comestible	75.91	78.29	15.69	15.77	2.17	1.83	3.08	2.45	3.15	1.66	
Mejillón		Mytilus galloprovincialis	Murcia	P. comestible	N.d.	82.49	N.d.	11.49	N.d.	0.87	N.d.	1.85	N.d.	3.30	
Ostra		Ostrea edulis	Murcia	P. comestible	N.d.	N.d.	P.a.	P.a.	P.a.	P.a.	P.a.	P.a.	P.a.	P.a.	
Pota		Todarodes sp.	Galicia	Alas y tentáculos	88.02	N.d.	8.31	N.d.	1.32	N.d.	2.22	N.d.	0.35	N.d.	
Pulpo		Octopus vulgaris	Murcia	Completo	79.85	78.04	16.32	18.50	0.56	0.21	2.14	2.48	1.12	1.14	
Pulpo		Octopus vulgaris	Murcia	Musculo	83.28	79.82	12.99	15.75	0.29	0.21	2.38	2.43	1.05	1.78	
Pulpo		Octopus vulgaris	Murcia	Glándula digestiva	68.19	69.41	23.49	18.95	2.78	1.58	1.73	2.33	3.81	7.72	
Pulpo		Octopus vulgaris	Murcia	Gónada	72.02	78.30	18.80	15.46	1.97	1.03	1.85	2.29	5.35	2.92	
Peces		Bacaladilla	Micromesistius poutassou	Asturias	P. comestible	76.41	72.05	21.57	22.48	0.66	2.19	1.34	2.05	0.50	1.21
		Bacaladilla	Micromesistius poutassou	Galicia	P. comestible	77.54	79.12	20.63	17.77	0.64	1.11	1.79	2.71	0.00	0.44
		Boga cultivo	Boops boops	Canarias	P. comestible	52.60	69.50	16.90	17.80	28.30	10.20	1.00	1.20	1.20	1.30
	Boga cultivo	Boops boops	Murcia	P. comestible	N.d.	62.79	N.d.	18.65	N.d.	17.59	N.d.	1.62	N.d.	0.00	
	Boga salvaje	Boops boops	Canarias	P. comestible	75.90	N.d.	20.60	N.d.	2.00	N.d.	1.60	0.00	0.00	N.d.	
	Boga salvaje	Boops boops	Murcia	P. comestible	75.82	80.26	20.44	18.19	2.18	0.42	1.92	1.67	0.00	0.01	
	Dorada deformes	Sparus aurata	Canarias	P. comestible	N.d.	68.10	N.d.	16.60	N.d.	11.80	N.d.	1.20	0.00	2.30	
	Jurel	Trachurus trachurus	Asturias	P. comestible	67.42	70.95	25.03	19.67	4.54	5.99	1.80	1.48	1.81	1.90	
	Lisa	Mugil sp.	Cataluña	P. comestible	76.16	75.56	18.10	17.99	0.16	0.22	5.66	4.01	0.00	2.20	
	Móllera	Trisopterus minutus	Cataluña	P. comestible	77.50	78.70	19.60	18.85	0.16	0.10	1.94	1.63	0.80	0.73	
	Sardina	Sardina pilchardus	Murcia	P. comestible	65.77	77.73	19.41	19.54	14.62	0.16	1.72	1.79	0.00	0.79	

2.1.4. Aminoácidos.

GAB-UPV, C.A. de Valencia.

La diferencia más aparente entre la nutrición de los vertebrados terrestres y los acuáticos es la relación entre los requerimientos de proteína y energía, observándose un patrón extremo en los cefalópodos (50 g/MJ para crecimientos óptimos). Este valor tan alto puede explicarse por el predominio del metabolismo de aminoácidos y su uso para energía (Lee, 1994). Puesto que los aminoácidos son utilizados como fuente energética no tiene sentido separarlos del resto de energía de la dieta. La estrategia adecuada sería tratar de mejorar la calidad de la proteína suministrada optimizando el balance de aminoácidos. La determinación del contenido en aminoácidos en el pulpo, de dietas naturales y de distintas materias primas serviría para optimizar el balance de aminoácidos en la formulación de piensos para el pulpo.

Material y Métodos.

Se analizaron 33 muestras diferentes procedentes de las CCAA participantes en el Plan Nacional "Optimización del engorde de pulpo *Octopus vulgaris* 2007-2009" (Andalucía, Asturias, Cataluña, Canarias, Galicia, Murcia y Valencia), recogándose tanto en verano como en invierno. Los aminoácidos se determinaron en la UPV por HPLC usando un detector de fluorescencia (Model 474, Waters) según Bosch et al. (2006) y empleando ácido amino butírico como patrón interno. Se empleó la cantidad de muestra liofilizada necesaria para contener 50 mg de proteína bruta. Se calcularon: Valor patrón = $\text{mgAA}_{\text{muestra}}/\text{mgAA}_{\text{pulpo}} \cdot 100$; Cómputo químico: Valor mínimo de los valores patrón de los AA esenciales; Índice de Oser: Media geométrica de los valores patrón de los AA esenciales.

Resultados.

Tabla 2. Resultados aminoácidos ASTURIAS INVIERNO

Aminoácidos mg aac/100 g	CANGREJO	LIRIO	MEJILLÓN	JUREL	BOGA
AC.L.CISTEICO	1146,19	1582,11	1639,38	1142,92	1466,42
ASP	4392,18	7438,02	5090,30	6150,09	7647,26
SER	2164,70	3255,58	2733,87	2433,72	3264,98
GLU	6137,89	10825,51	6355,13	8783,97	11042,42
GLY	3807,61	3361,13	5428,62	3475,21	4348,49
HIS	1267,10	1739,15	1131,59	1994,13	3674,75
NH3	1374,51	1709,52	1807,09	1452,75	2065,06
ARG	6824,08	5623,15	10707,10	4889,15	6275,27
THR	2381,02	3661,22	3082,93	2754,09	3940,39
ALA	2572,55	4591,07	2767,86	3712,29	4625,17
L.MET.SULF.	812,16	2045,05	876,07	1647,23	1990,36

PRO	2055,27	2579,51	1899,33	2065,13	2646,79
ABA	5251,53	7545,85	5780,64	6087,29	7703,06
TYR	1828,82	3257,82	1470,25	1633,22	2892,38
VAL	2070,45	3658,36	2260,81	2848,04	4104,44
LYS	3173,82	6725,03	3778,31	5571,74	6950,62
ILE	1849,44	3314,06	2032,18	2502,32	3628,93
LEU	3189,16	6112,32	3220,82	4545,97	6291,37
PHE	1940,10	3274,51	2983,54	2206,20	3452,83

Tabla 3. Resultados aminoácidos ASTURIAS VERANO

Aminoácidos mg aac/100 g	Lirio	Jurel	Cangrejo	Mejillón
AC.L.CISTEICO	1688,20	1224,41	1375,14	1469,14
ASP	8944,01	6734,31	5808,43	5707,21
SER	3439,74	2901,08	2647,15	2816,68
GLU	13501,43	10114,99	8530,70	7507,98
GLY	4568,87	4496,70	3217,98	5028,34
HIS	1481,48	2094,00	1614,09	1005,07
NH3	2448,10	1849,00	1732,60	1605,49
ARG	5342,15	5381,33	6319,95	9929,52
THR	3070,98	2781,78	2469,63	2149,88
ALA	4922,72	4066,05	2430,76	2792,13
L.MET.SULF.	2312,59	1877,79	1512,81	1095,68
PRO	3150,76	2364,04	3269,44	2280,29
ABA	7639,94	7306,56	5744,15	6338,50
TYR	2115,90	1734,97	1906,54	1645,17
VAL	3460,21	2955,43	2456,98	1967,17
LYS	8161,27	6535,61	4584,17	4632,88
ILE	3447,22	2895,47	2293,53	1977,23
LEU	6212,25	5082,59	3795,05	3204,58
PHE	2891,82	2596,04	2091,15	1681,10

Tabla 4. Resultados aminoácidos IMIDA INVIERNO

Aminoácidos mg aac/100 g	Pulpo completo	Pulpo músculo	Hepatopán creas	Pulpo gonadas	Boga salvaje	Boga crianza	Sardina	Cangrejo
AC.cisteico	1576,41	1500,30	2705,35	2039,12	2379,12	1270,07	1672,90	1315,98
ASP	7527,39	7506,00	6220,45	6088,99	9702,20	5329,24	10027,37	5374,92
SER	3398,35	3541,87	2964,19	3298,59	4053,11	1922,47	3802,71	2244,08
GLU	10465,66	10404,57	7252,28	7769,32	14023,26	7323,63	13887,14	6874,44
GLY	4605,79	5206,22	2737,62	2881,37	4331,56	2175,82	4334,84	3411,17
HIS	1255,38	1316,72	1326,40	1389,49	2655,68	2446,11	3080,07	1356,19
NH3	2016,91	1891,85	1951,32	1757,14	2217,48	1280,31	2498,92	1913,06
ARG	13892,25	14980,30	8919,80	14783,34	7051,33	2747,46	6420,87	6133,02
THR	2760,61	2990,06	2670,77	2777,32	4021,22	1956,39	3803,22	2427,27
ALA	3748,00	3654,97	2736,31	2781,44	5290,67	2885,59	5483,63	2948,94
L.MET.SUL	1336,90	1254,58	1089,70	1088,69	2364,85	1220,30	2551,65	2801,53
PRO	2628,74	2760,30	1966,26	2231,58	2890,09	1410,77	2932,03	2843,58
ABA	7296,72	7024,19	6662,65	6221,80	7568,20	7004,44	5455,57	5284,90
TYR	1756,02	1844,57	1881,71	1942,83	2473,43	1273,49	2399,06	1624,21
VAL	2675,67	2667,87	2596,00	2611,71	4240,40	2290,86	4329,35	2349,41
LYS	5326,22	4973,29	4392,68	4912,74	8448,86	4764,84	9146,11	3725,77
ILE	2755,84	2726,62	2552,74	2463,20	3722,25	1940,57	3739,67	2026,67
LEU	4727,01	4766,05	3873,30	4051,35	6776,35	3568,36	6630,61	3326,98
PHE	1944,45	2038,32	2225,35	2083,65	2860,37	1502,05	2959,93	1873,00

Tabla 5. Resultados aminoácidos IMIDA VERANO

Aminoácidos mg aac/100 g	Pulpo Glándula	Músculo Pulpo	Pulpo Completo	Sardina	Cangrejo
AC.L.CISTEICO	2673,26	1228,99	1413,98	1082,90	1152,93
ASP	5706,33	5352,45	5803,13	4340,50	4298,08
SER	3255,46	2845,62	3422,15	2138,22	1899,21
GLU	7609,67	7725,62	8420,19	6286,56	5698,66
GLY	3518,09	4023,07	5327,77	2845,54	2689,22
HIS	1658,93	1258,54	1627,23	2649,96	1327,42
NH3	1504,43	1430,57	1471,40	1085,56	1429,42
ARG	9814,39	16134,94	17677,93	4026,79	5554,08
THR	3536,04	2889,59	3437,64	2406,45	2158,18
ALA	2985,31	3074,80	3333,61	2863,21	2721,44
L.MET.SULF.	1268,83	1079,57	1172,79	1430,55	822,83
PRO	2198,19	2476,50	2885,32	1685,25	2375,66
ABA	6794,75	7080,09	7187,51	5474,69	5078,03
TYR	2215,65	2245,21	2621,18	1814,04	1778,04
VAL	2922,05	2290,16	2694,50	2468,86	1991,44
LYS	4417,94	3817,03	3958,28	3947,54	3138,39
ILE	2978,53	2317,41	2791,93	2095,80	1718,40
LEU	4682,31	4193,85	4884,25	3787,98	2875,38
PHE	2773,16	2109,74	2785,43	2310,01	1832,25

Tabla 6. Resultados aminoácidos UNIVERSIDAD SANTIAGO DE COMPOSTELA I

Aminoácidos mg aac/100 g	POTA	CABEZA CAMARON	MEJILLÓN	BACALADILLA
AC.L.CISTEICO	1149,17	1410,03	2665,17	1957,08
ASP	6193,21	4860,78	5177,49	9238,65
SER	2680,19	2443,10	3517,01	3686,47
GLU	8774,11	6223,55	6630,36	13075,00
GLY	5234,23	5233,27	4988,24	4337,36
HIS	1180,37	1660,08	1330,50	1651,78
NH3	1452,25	1704,11	1867,14	2448,77
ARG	5382,88	6119,68	8811,03	6050,96
THR	2711,40	2291,63	3382,55	3871,67
ALA	3839,82	2898,48	3177,19	5635,65
L.MET.SULF.	1234,15	1033,90	1234,51	2396,49
PRO	3068,42	2329,89	2338,24	2601,86
ABA	6153,60	5389,30	6244,43	7432,97
TYR	1569,34	1878,11	2218,00	2604,60
VAL	2478,83	2553,74	2759,62	4249,78
LYS	4449,10	2924,11	4747,67	8233,18
ILE	2602,52	2163,19	2399,95	3694,31
LEU	4636,61	3556,34	4028,41	7044,70
PHE	1872,16	2489,93	2141,55	3248,43

Tabla 7. Resultados aminoácidos UNIVERSIDAD SANTIAGO DE COMPOSTELA II

Aminoácidos mg aac/100 g	MEJILLÓN	LIRIO
AC.L.CISTEICO	921,02	1379,43
ASP	8184,01	6712,27
SER	3494,42	3856,35
GLU	11776,43	8131,17
GLY	5229,72	4981,75
HIS	1270,90	1131,81
NH3	2071,60	2006,84
ARG	5195,17	7661,65
THR	3051,60	2932,98
ALA	5123,01	3345,23
L.MET.SULF.	1323,97	1057,97
PRO	2810,09	2457,39
ABA	7473,05	5767,53
TYR	1536,18	1724,28
VAL	3220,98	2548,68
LYS	6801,54	5680,07
ILE	2797,79	2306,43
LEU	5203,31	3737,27
PHE	2405,17	1898,88

Tabla 8. Resultados aminoácidos IRTA INVIERNO

Aminoácidos mg aac/100 g	TRISOP	MUJIL
AC.L.CISTEICO	1999,06	1597,62
ASP	7990,61	6201,25
SER	3737,58	2911,75
GLU	12224,72	8916,94
GLY	4291,48	3680,91
HIS	1963,79	2092,21
NH3	1776,63	1398,12
ARG	8396,17	5274,89
THR	4082,86	3253,08
ALA	5159,01	3953,22
L.MET.SULF.	2462,79	1916,71
PRO	2224,86	2198,00
ABA	8189,41	6581,74
TYR	3314,94	2343,61
VAL	4011,91	3271,50
LYS	7345,34	6072,25
ILE	3563,38	2931,71
LEU	6521,28	5200,61
PHE	4009,98	2586,67

Tabla 9. Resultados aminoácidos IRTA VERANO

Aminoácidos mg aac/100 g	MUGIL	MOLLERA
AC.L.CISTEICO	1583,58	1937,23
ASP	8013,97	9600,70
SER	3037,05	3809,10
GLU	11098,57	13866,91
GLY	3795,00	4261,51
HIS	1747,72	1845,23
NH3	2096,63	2491,26
ARG	5531,79	7641,79
THR	3343,72	4329,69
ALA	4941,86	6398,01
L.MET.SULF.	1959,77	2584,52
PRO	2434,24	2880,12
ABA	8433,09	7211,25
TYR	1874,85	2778,34
VAL	3886,04	5071,94
LYS	7019,13	8913,10
ILE	3313,41	4502,69
LEU	5886,33	7865,12
PHE	2435,88	3509,30

Tabla 10. Resultados aminoácidos ANDALUCIA

Aminoácidos mg aac/100 g	CALAMAR	CANGREJO DE RÍO
AC.L.CISTEICO	1632,55	1269,51
ASP	7808,89	7020,73
SER	3031,60	2672,03
GLU	10558,46	10259,20
GLY	3549,63	3488,26
HIS	1181,41	1347,84
NH3	2043,15	2289,44
ARG	10940,87	5659,36
THR	2827,41	2635,27
ALA	3688,58	4220,97
L.MET.SULF.	1817,29	1240,07
PRO	3789,07	2202,37
ABA	6305,83	5336,74
TYR	1772,99	1827,79
VAL	2644,21	2799,15
LYS	5966,39	5047,37
ILE	2649,03	2603,22
LEU	4815,22	4643,08
PHE	2207,36	2315,80

Tabla 11. Resultados aminoácidos CANARIAS

Aminoácidos mg aac/100 g	BOGA SALVAJE	BOGA PEQUEÑA	DORADA DEFORME	HARINA
AC.L.CISTEICO	1574,91	1001,65	1081,21	1053,09
ASP	8345,54	6312,40	5148,20	6778,27
SER	3147,69	2494,43	2040,18	3445,14
GLU	11985,88	9055,49	7273,77	9958,88
GLY	3550,21	2710,62	2616,07	7296,14
HIS	2117,24	3052,26	1188,74	1324,91
NH3	2031,18	1561,95	1234,43	1788,38
ARG	5122,35	3769,75	3592,94	5133,05
THR	3441,27	2520,43	2079,63	2829,14
ALA	4710,64	3511,93	2908,61	4624,59
L.MET.SULF.	2118,52	1541,23	1363,22	1873,59
PRO	2260,28	1659,56	1524,41	3580,41
ABA	7795,67	7820,22	4849,45	6728,78
TYR	2253,48	1719,28	1358,91	1845,53
VAL	3529,74	2727,27	2221,92	2888,71
LYS	7672,29	5883,67	4754,27	5278,31
ILE	3127,53	2391,66	1905,40	2327,29
LEU	5724,37	4380,60	3450,58	4289,92
PHE	2535,71	2014,83	1576,04	2107,08

Los aminoácidos esenciales más abundantes en el pulpo fueron la arginina, leucina y lisina (210, 64 y 62 mgAA/g Prot., respectivamente); y los no esenciales glutamato, aspartato y glicina (126, 89 y 66 mgAA/g Prot.) (Fig. 1), corroborando los resultados obtenidos previamente por Villanueva *et al.* (2004).

El aminoácido limitante en todas las muestras analizadas fue la arginina, con valores de Cómputo químico mínimos en peces, como la boga (27-40 %), el lirio (33 %), o la lisa (37 %), intermedios para los crustáceos (53-54 %) y máximos para moluscos como el calamar (71 %) y el mejillón (81 %), y sugiriendo que estos dos últimos podr an cubrir mejor los requerimientos de arginina que los restantes. El  ndice de Oser reflejó igualmente un balance global de aminoácidos esenciales más apropiado en el mejillón, el calamar y los crustáceos, con peores resultados para los peces y harina de pescado (Fig. 2).

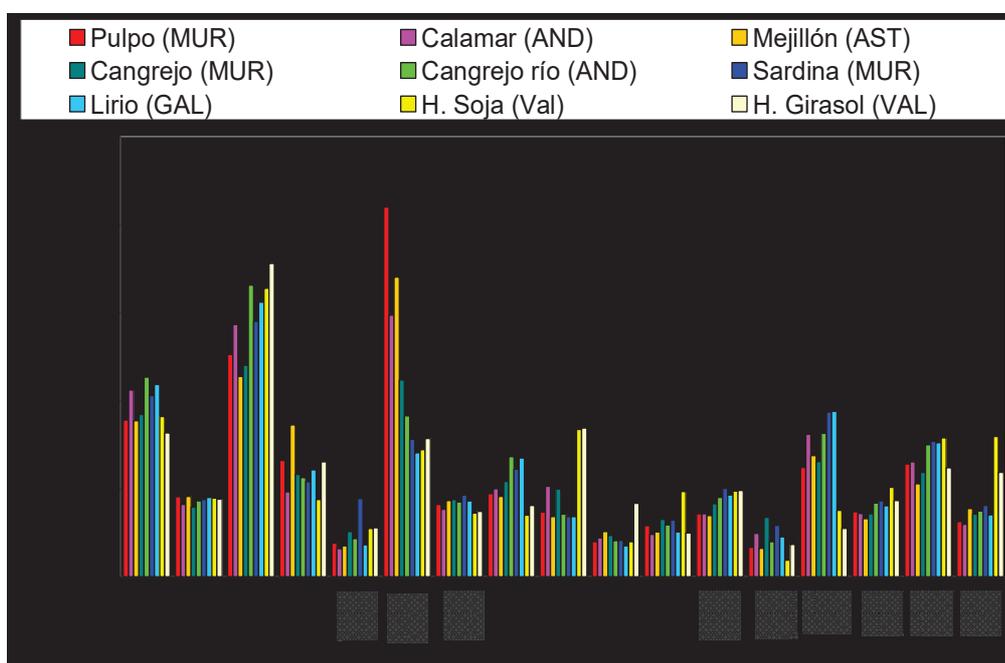


Figura 1. Contenido en aminoácidos (mg AA/g Prot.) en el pulpo y en diferentes dietas naturales. Valores medios entre las muestras de verano e invierno. Aminoácidos sombreados considerados esenciales.

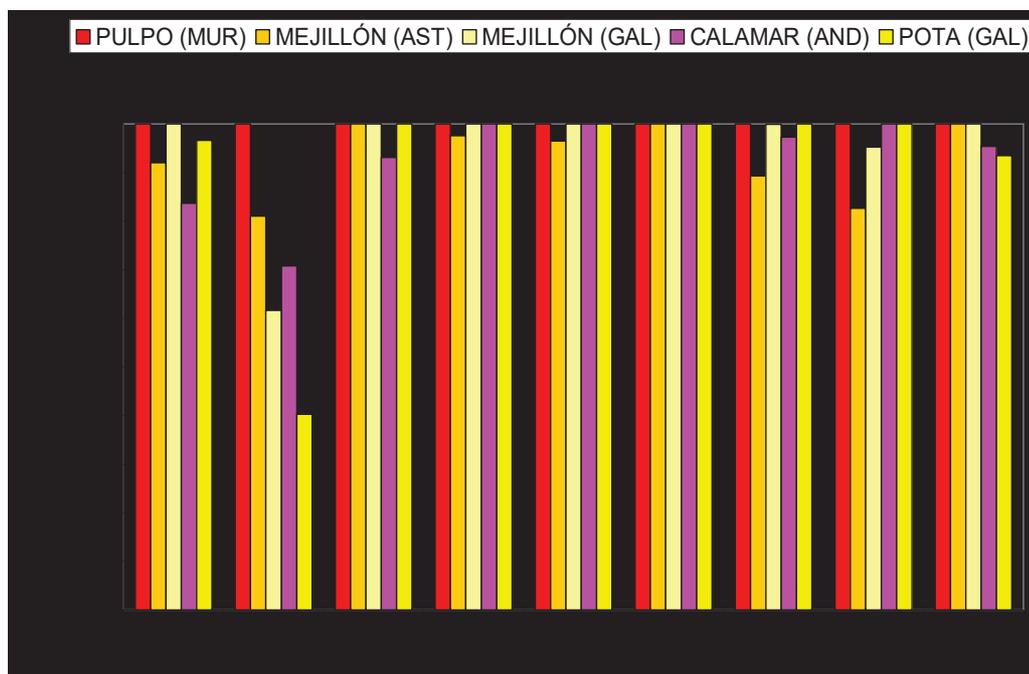


Figura 2.

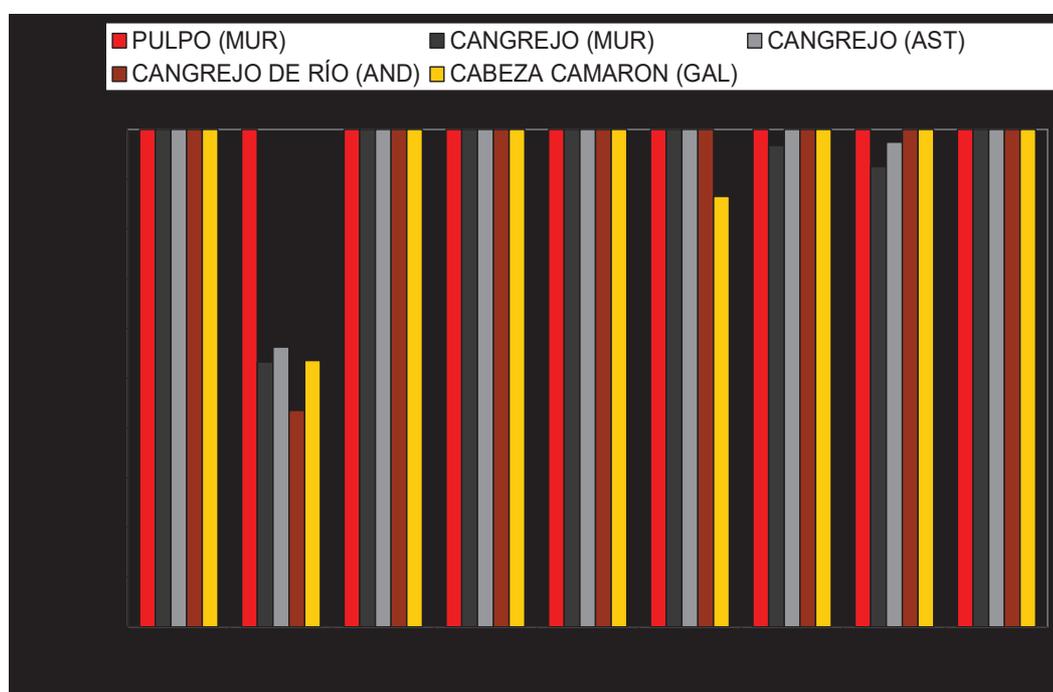


Figura 3.

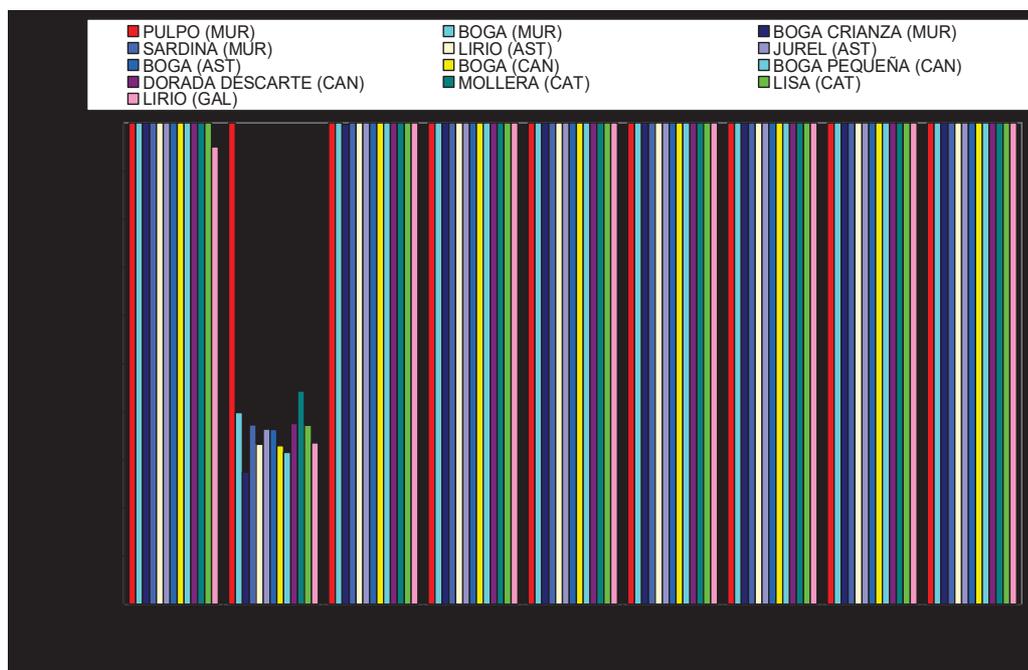


Figura 4.

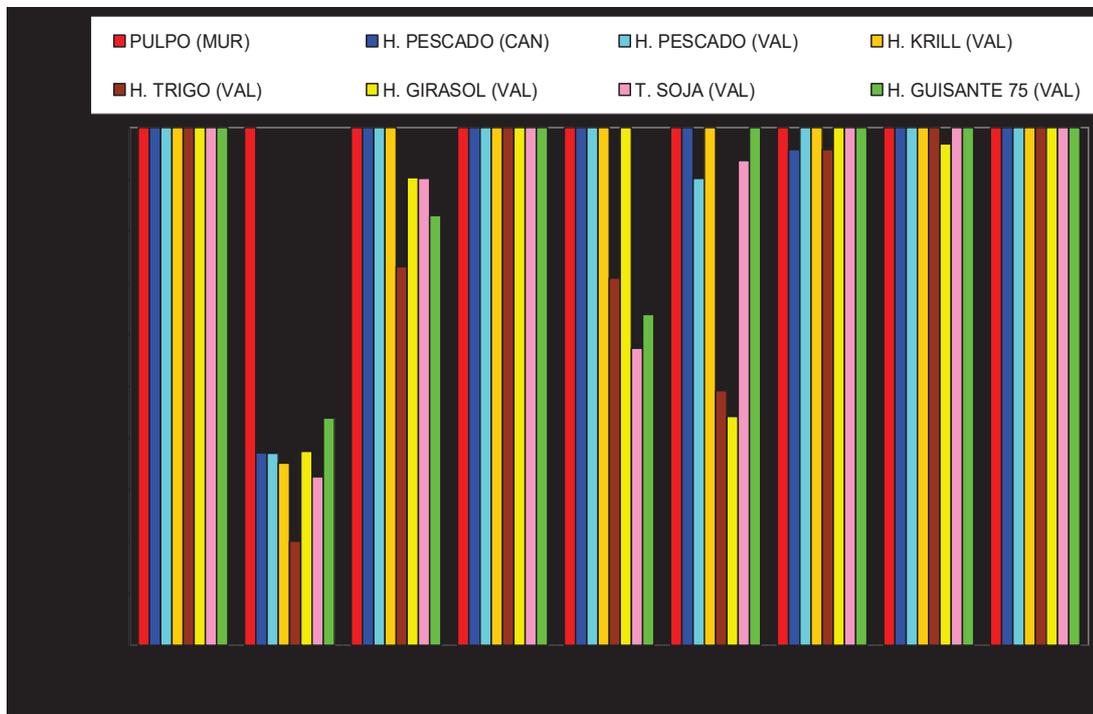


Figura 5.

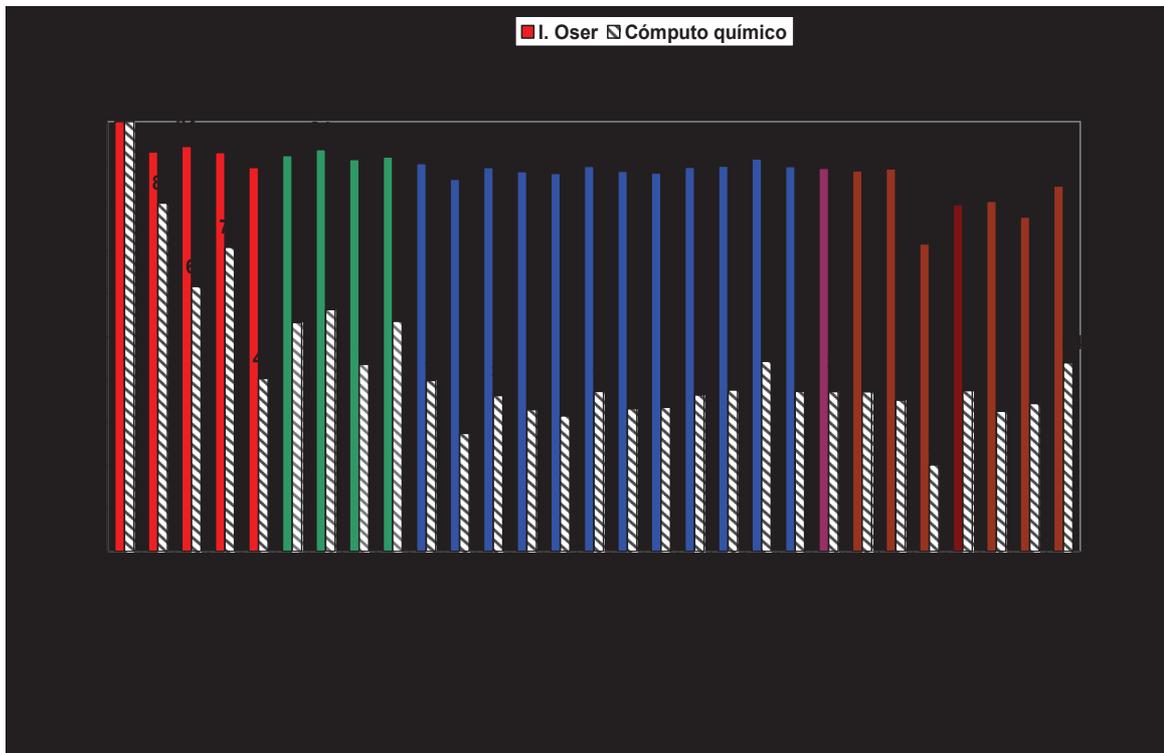


Figura 6.

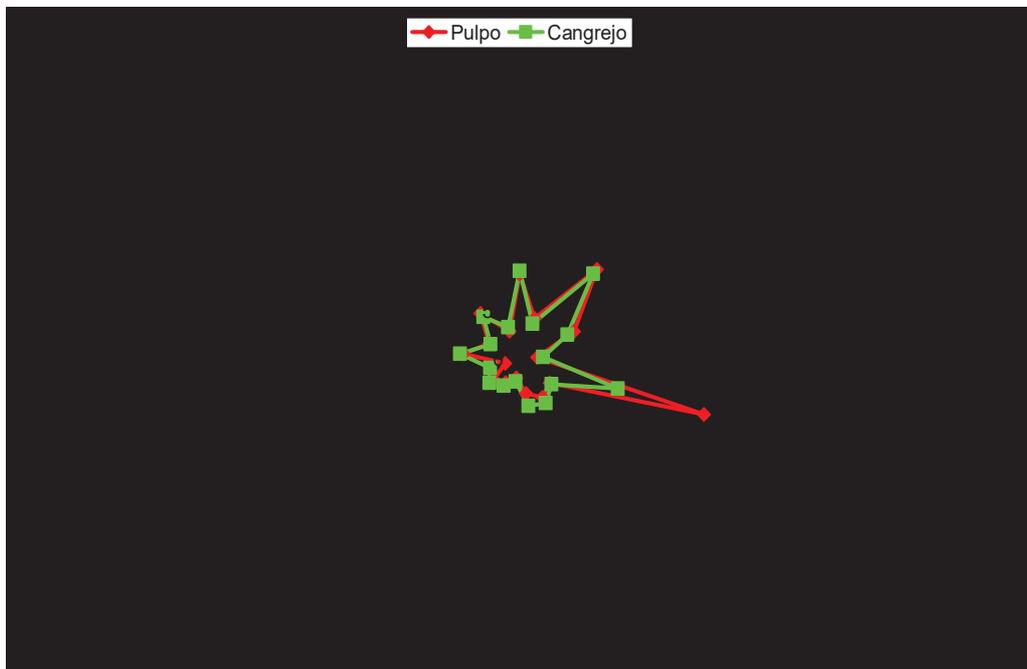


Figura 7.

Conclusiones.

-La arginina representa el AA limitante en todas las muestras analizadas, siendo los moluscos y crustáceos las dietas naturales que mejor cubrirían los requerimientos de este AA.

El mejor balance proteico para la alimentación del pulpo se ha obtenido igualmente en moluscos y crustáceos, y por orden de importancia en el mejillón, cangrejo común y calamar.

-Todas las especies de peces y las harinas de pescado y krill analizadas estarían bien balanceadas para la alimentación del pulpo considerando todos los AA esenciales con excepción de la arginina.

-Las harinas vegetales presentaron el peor balance de aminoácidos, con deficiencias evidentes para la arginina y treonina en todas ellas, lisina en trigo y girasol, y metionina en soja y guisante.

Bibliografía

Villanueva, R., J. Riba, C. Ruíz-Capillas, A. V. González y M. Baeta. 2004. Aminoacid composition of early stages of cephalopods and effect of aminoacid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*: 455–478.

2.1.5. Clases lipídicas.

IMIDA, C.A de Murcia.

Metodología.

Inicialmente la grasa fue extraída por el método de Folch et al. (1957), disuelta en hexano y mantenida en viales en el ultracongelador a -80 °C hasta su uso. Posteriormente, la concentración de grasa se reajustó a 10 ug/ul (10 mg/ml) con cloroformo/metanol (2:1) en viales aparte. Se aplicaron 15 ug de lípidos totales por muestra mediante un inyector automático LINOMAT 5 (CAMAG) (Fig. 1A) en placas de Silicagel 60 de 20x10 cm para HPTLC. La separación de las clases lipídicas se llevó a cabo por cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) empleando inicialmente una mezcla de disolventes para los lípidos polares (Metilacetato: Isopropanol: Cloroformo: Metanol: 0,25 % KCl. 5:5:5:2:1,8 v/v) y posteriormente otra para lípidos neutros (Hexano: Dietil eter: Ácido acético glacial. 16:4:0,4 v/v). Las bandas resultantes se leyeron mediante un Scanner para evaluación densitométrica (TLC Scanner 3, Camag) (Fig. 1B), de acuerdo con Olsen y Henderson (1989). Los resultados obtenidos se expresaron cuantitativamente como mg de cada clase lipídica presentes por cada 100 g de muestra en peso húmedo.

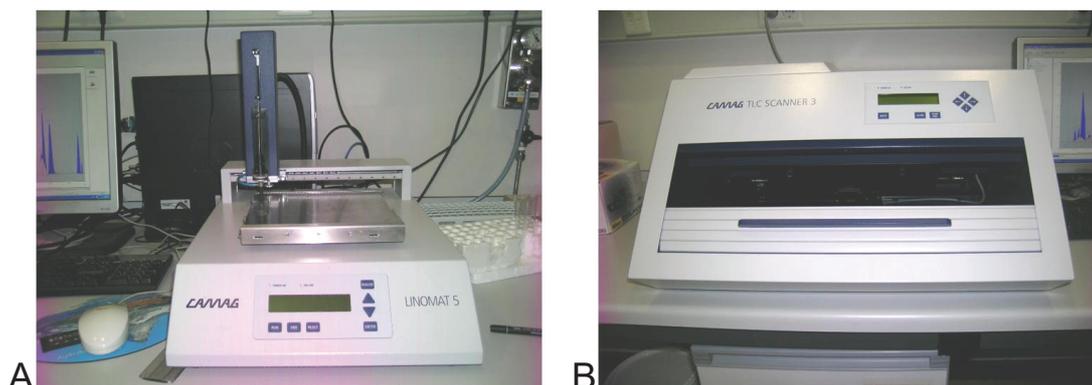


Fig. 1(A-B). Autoinyector (A) y scanner (B) empleados para la determinación de las clases lipídicas.

Folch, J., Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.

Olsen, R.E., Henderson, R.J. (1989). The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 189-197.

Identificación de las bandas correspondientes a las clases lipídicas.

En primera instancia se determinó el orden de aparición y la posición de referencia de cada una de las clases lipídicas aplicando cada una de ellas por separado y a partir de disoluciones elaboradas con patrones puros (Tablas 1 y 2; Fig. 2). Las clases de lípidos para las cuales no se dispuso de patrón puro se identificaron según Olsen y Henderson (1989).

Tabla 1. Clases de lípidos, abreviaturas empleadas en el presente informe y formas de cálculo.

LÍPIDOS POLARES	ABREV.	CÁLCULO*
Lisofosfatidilcolina	LPC	Cuantitativo
Esfingomiélna	SM	Cuantitativo
Fosfatidilcolina	PC	Cuantitativo
Lisofosfatidiletanolamina	LPE	Cuantitativo
Fosfatidilserina	PS	Cuantitativo
Fosfatidilinositol	PI	Cuantitativo
Fosfatidiletanolamina	PE	Cuantitativo
Ácido fosfatídico/Cardiolipina/Fosfatidilglicerol	PA/CL/PG	Cuantitativo
Digalactosil diacilgliceroles	DGDG	Cualitativo
Sulfolípidos	SL	Cualitativo
Cerebrósidos	CE	Cualitativo
Monogalactosil diacilgliceroles	MGDG	Cualitativo
Pigmentos	PIG	Cualitativo
LÍPIDOS NEUTROS		
Monoglicéridos (Monoleína)	MG	Cuantitativo
Colesterol (Colesterol)	CHO	Cuantitativo
Diglicéridos (Dioleína)	DG	Cuantitativo
Estándar interno (Oleil alcohol)	OA	Cuantitativo
Ácidos grasos libres (Ácido oléico)	FFA	Cuantitativo
Triglicéridos (Trioleína)	TG	Cuantitativo
Esteroles (Colesterol oleato)	SE	Cuantitativo
Ceras (Oleil estearato)	WE	Cuantitativo

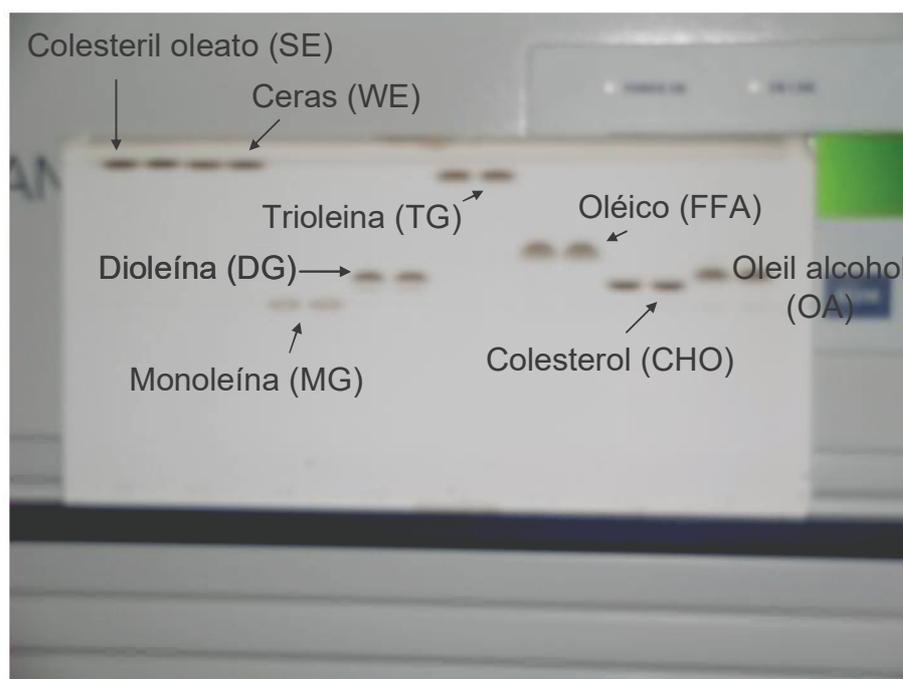


Fig. 2. Identificación de la posición de referencia de los lípidos polares.

El ácido fosfatídico, el fosfatidilglicerol y la cardioplipina ocuparon la misma posición de referencia, así como los esteroides y las ceras por lo que los resultados de estas sustancias se expresaron conjuntamente. Igualmente, los diglicéridos ocuparon la misma posición de referencia que el estándar interno (Oleil alcohol) por lo que se desaconseja la inclusión de este último en las muestras para evitar interferencias. Su uso implica por lo tanto la aplicación en una pista diferente a la de las muestras.

Tabla 2. Clasificación de las clases lipídicas según su posición de referencia en la placa (Rf) y orden de aparición.

Sustancia	Pos. Ini.	Pos. Fin.	Pos.(mm)	Pos relativa
LPC	0.09 Rf	0.11 Rf	18,1	1
LPC	0.08 Rf	0.11 Rf	18,0	1
SM	0.12 Rf	0.18 Rf	22,5	2
SM	0.12 Rf	0.18 Rf	22,4	2
PC	0.18 Rf	0.23 Rf	26,4	3
PC	0.17 Rf	0.24 Rf	26,4	3
LPE	0.25 Rf	0.29 Rf	32,9	4
LPE	0.26 Rf	0.29 Rf	33,4	4
PS	0.28 Rf	0.32 Rf	35,8	5
PS	0.28 Rf	0.32 Rf	35,7	5
PI	0.31 Rf	0.36 Rf	37,6	6
PI	0.31 Rf	0.35 Rf	37,6	6
PA	0.32 Rf	0.37 Rf	39,6	7
PA	0.32 Rf	0.37 Rf	39,6	7
PE	0.35 Rf	0.38 Rf	41,4	8
PE	0.35 Rf	0.39 Rf	41,3	8
MG	0.52 Rf	0.58 Rf	56,4	9
MG	0.53 Rf	0.57 Rf	56,5	9
CHO	0.60 Rf	0.67 Rf	64,4	10
CHO	0.61 Rf	0.68 Rf	64,3	10
DG	0.63 Rf	0.69 Rf	65,8	11
DG	0.63 Rf	0.68 Rf	66,0	11
OA	0.64 Rf	0.70 Rf	66,7	11
OA	0.63 Rf	0.70 Rf	66,5	11
FFA	0.68 Rf	0.75 Rf	70,7	12
FFA	0.68 Rf	0.75 Rf	70,7	12
TG	0.95 Rf	0.99 Rf	92,7	13
TG	0.95 Rf	0.99 Rf	92,8	13
SE	0.97 Rf	1.01 Rf	94,1	14
SE	0.97 Rf	1.01 Rf	94,4	14
WE	0.98 Rf	1.01 Rf	94,4	14
WE	0.98 Rf	1.02 Rf	94,5	14

Calibración para la cuantificación de las clases lipídicas

Se llevó a cabo una calibración para la cuantificación de las distintas clases lipídicas. Con este fin se obtuvo el área expresada en unidades arbitrarias (U.A.) correspondiente a la aplicación de entre 0,1 y 15 ug de cada clase lipídica y por triplicado. Con estos datos se elaboró una recta patrón compuesta de 6 a 12 puntos, dependiendo de los límites de detección de la sustancia. Los valores obtenidos se ajustaron a la ecuación de una recta ($y = a + bx$) para la LPC y LPE o a una función no lineal del tipo saturación ($y = y_0 + ax/(b+x)$) para el resto de clases lipídicas. Todas las rectas elaboradas se ajustaron de forma muy significativa a los valores obtenidos ($P < 0,001$) y explicaron más del 99 % de la variabilidad observada. Los parámetros de las rectas de calibración se muestran en la Tabla 3 y su representación en las Figuras 3A (lípidos polares) y 3B (lípidos neutros).

Tabla 3. Parámetros obtenidos para las rectas de calibración de las distintas clases lipídicas

Sustancia	Tipo ¹	Rango (ug)	y ₀	a	b	R ²	SE ²	P<
LPC	Lineal	0,5-10		106,51	217,93	0,99	74,28	0,001
SM	Curva	0,1-15	137,52	19488,10	9,28	0,99	222,28	0,001
PC	Curva	0,1-15	-982,81	25156,00	7,08	0,99	434,95	0,001
LPE	Lineal	0,1-10		110,19	218,88	0,99	79,84	0,001
PS	Curva	0,75-15	-1230,89	20161,30	6,16	0,99	273,39	0,001
PI	Curva	0,1-9	-560,40	27426,00	8,10	0,99	498,42	0,001
PA	Curva	0,75-15	-844,13	27968,50	11,19	0,99	678,61	0,001
PE	Curva	0,1-15	237,83	62514,20	32,50	0,99	682,72	0,001
MG	Curva	0,1-15	1,59	8401,00	2,92	0,99	131,82	0,001
CHO	Curva	0,1-15	46,87	35297,60	7,42	0,99	536,23	0,001
DG	Curva	0,1-15	134,60	26607,90	10,75	0,99	343,61	0,001
OA	Curva	0,5-15	-456,96	26877,20	9,44	0,99	328,73	0,001
FFA	Curva	0,1-15	-179,87	29138,60	9,56	0,99	231,17	0,001
TG	Curva	0,1-15	-481,46	16700,70	4,19	0,99	429,83	0,001
SE	Curva	0,1-9	684,08	10246,50	2,77	0,99	141,89	0,001

¹Lineal $y = a + bx$; Curva $y = y_0 + (ax)/(b+x)$, donde y es el área del pico en unidades arbitrarias, x es la cantidad de lípido (ug) e y₀, a y b los coeficientes de las funciones.

²SE = Error estándar de la estimación

Para aquellas sustancias para las cuales no se dispuso de patrón puro se llevó a cabo inicialmente una determinación cualitativa obteniendo el porcentaje que representa el área del pico de esa sustancia respecto del total de áreas detectadas. Posteriormente, se estimó la cantidad de lípido como el producto del área por la cantidad total de lípido aplicada (15 ug). Este método permite incorporar todas las bandas observadas en la cromatografía y no descartar aquellas desconocidas. Como inconveniente, esta forma de presentación de los resultados asume que la respuesta de cada clase lipídica es la misma cuando se aplican cantidades similares. No obstante, tal y como se observa en las curvas de calibración, existe una diferencia importante en las áreas detectadas para igual cantidad de lípidos según la clase lipídica considerada. En las tablas del presente informe se indican aquellas sustancias cuyo cálculo se ha efectuado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

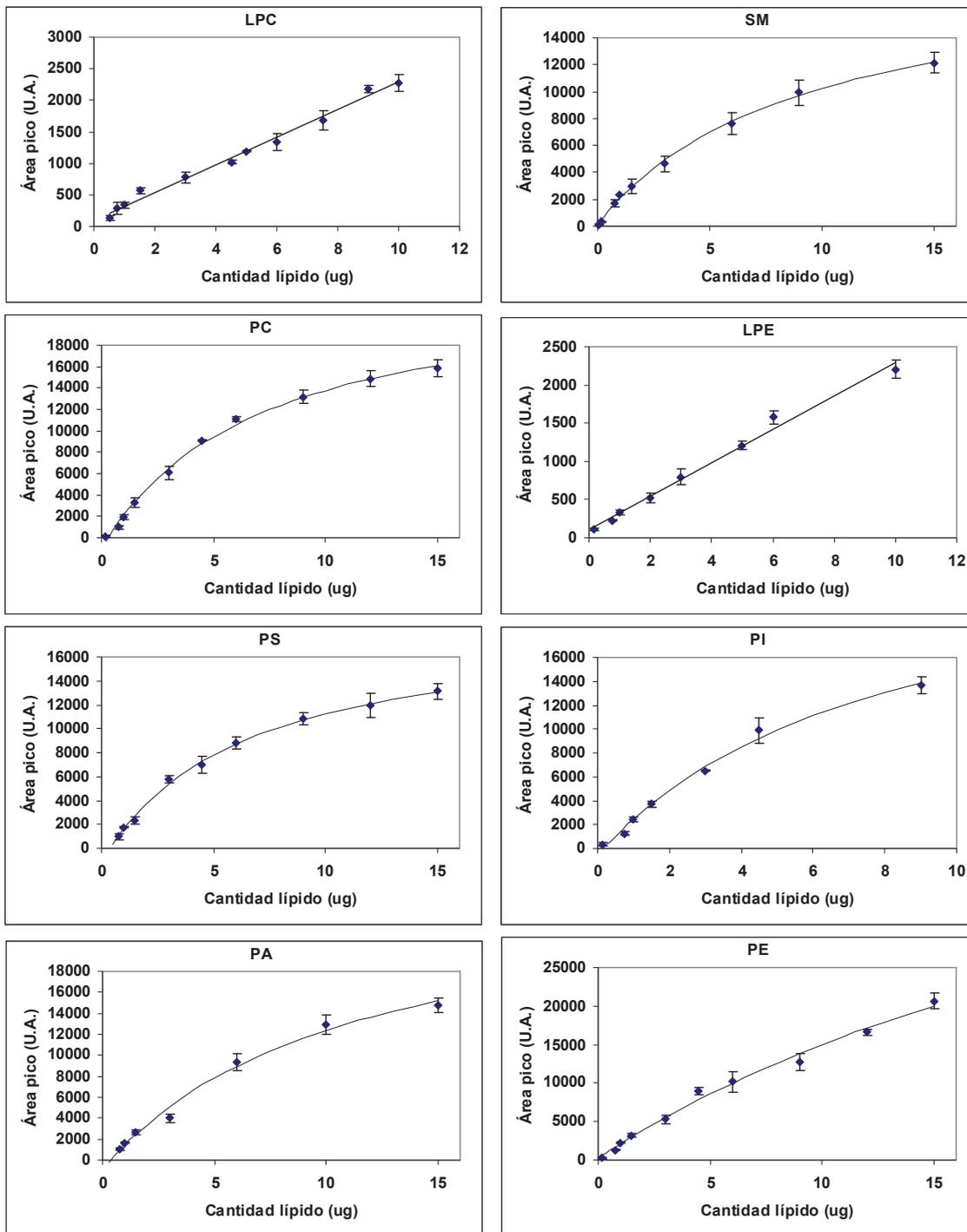


Figura 3A. Curvas de calibración para los lípidos polares.

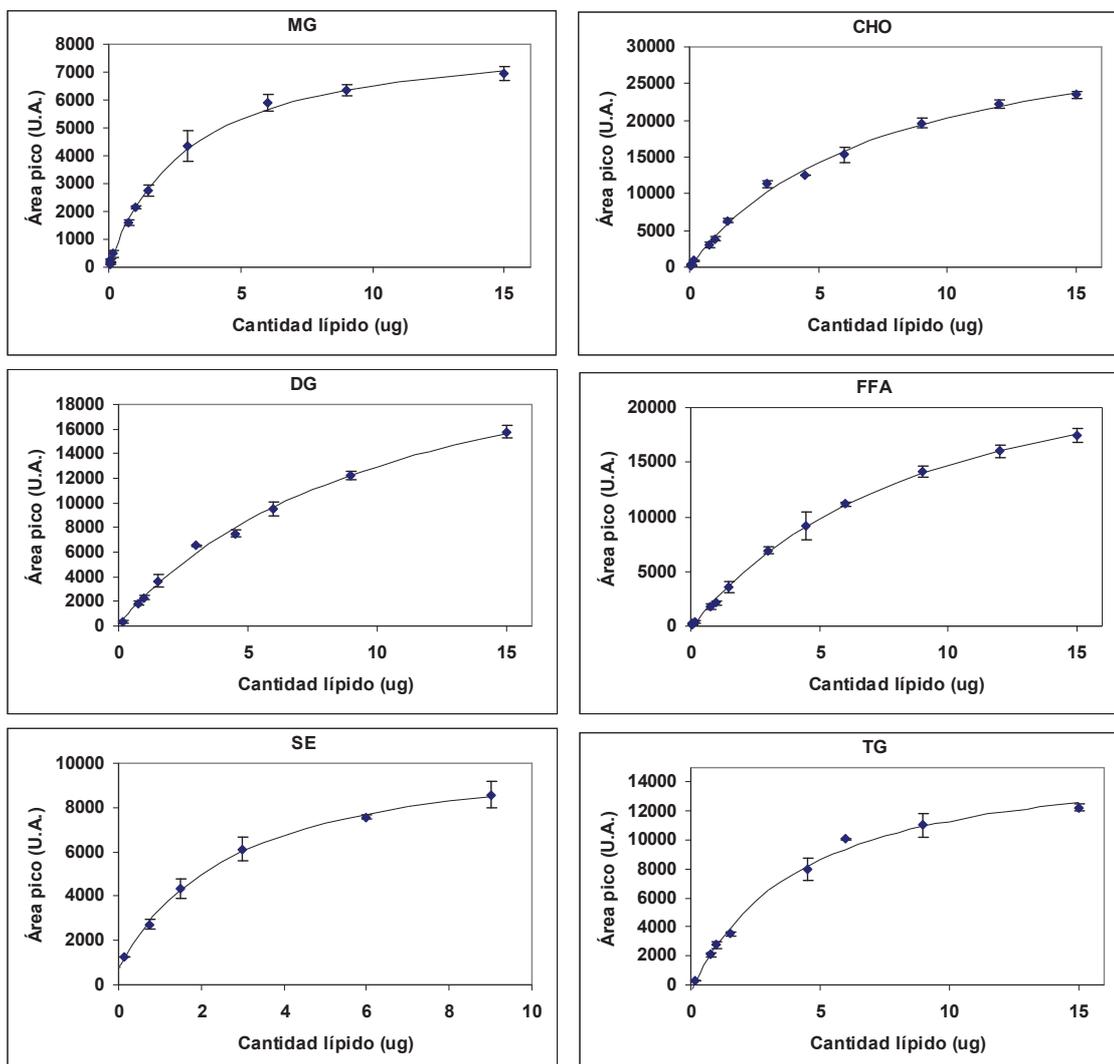


Figura 3B. Curvas de calibración para los lípidos neutros.

Clases lipídicas en peces

Tanto la lisa (*Mugil sp.*) como la móllera (*Trisopterus minutus*) se caracterizaron por ser especies con bajos niveles de lípidos (0,10-0,22 %), independientemente de la estación del año considerada, con predominio de los lípidos neutros o de reserva (58-73 %) sobre los polares o estructurales (27-42 %). Los lípidos polares más abundantes en ambas especies fueron la PC (16-28 mg/100 g) y PE (5-14 mg/100 g), destacando entre los lípidos neutros los FFA y TG. No obstante, se observó un claro patrón estacional en ambas especies. En la lisa predominaron los TG durante el verano (57,46 mg/100 g) y los MG (47,37 mg/100 g) y FFA (73,46 mg/100 g) en el invierno. Por el contrario, en la móllera destacaron los FFA durante el verano (53,07 mg/100 g), y los TG (21,94 mg/100 g) y SE (18,51 mg/100 g) durante el invierno (Tabla 4 y Fig. 4).

Tabla 4. Contenido de las distintas clases de lípidos en la lisa y la móllera (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie Origen Estación	Lisa (<i>Mugil sp.</i>)				Móllera (<i>Trisopterus minutus</i>)			
	Cataluña		Cataluña		Cataluña		Cataluña	
	Invierno		Verano		Invierno		Verano	
Lípidos polares (LP)	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
LPC*	2.79	0.14	2.84	0.40	0.44	0.06	3.27	0.28
SM	10.48	0.90	1.18	0.24	2.30	0.35	4.76	0.52
PC	23.16	1.26	22.30	0.74	16.92	2.01	28.10	3.24
LPE*	0.89	0.10	1.86	1.08	0.39	0.09	1.88	0.50
PS	6.43	0.00	4.58	0.29	2.86	0.05	4.50	0.00
PI	4.29	0.15	2.51	0.28	1.46	0.05	1.99	0.18
PA+PG+CL	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PE	10.96	1.15	9.39	0.95	5.44	0.90	13.08	1.13
SL*	1.03	0.21	1.69	0.15	0.24	0.11	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	47.37	1.90	11.42	2.29	6.78	0.24	7.21	0.39
DG	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
CHO	16.56	1.17	6.71	1.31	4.60	0.45	5.20	0.26
FFA	73.46	11.79	30.10	4.06	25.58	0.29	53.07	3.03
SE+WE	14.56	4.65	N.d.	N.d.	18.51	1.22	3.59	0.63
TG	8.36	1.18	57.46	0.69	21.94	0.60	11.78	1.41
LP (g/100)	0.06	27.24%	0.05	30.48%	0.03	27.96%	0.06	41.60%
LN (g/100)	0.16	72.76%	0.11	69.52%	0.08	72.04%	0.08	58.40%
Total (g/100)	0.22		0.15		0.11		0.14	
Observado (g/100)	0.22		0.16		0.16		0.10	
Diferencia (%)	0.15		4.98		32.84		38.43	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado

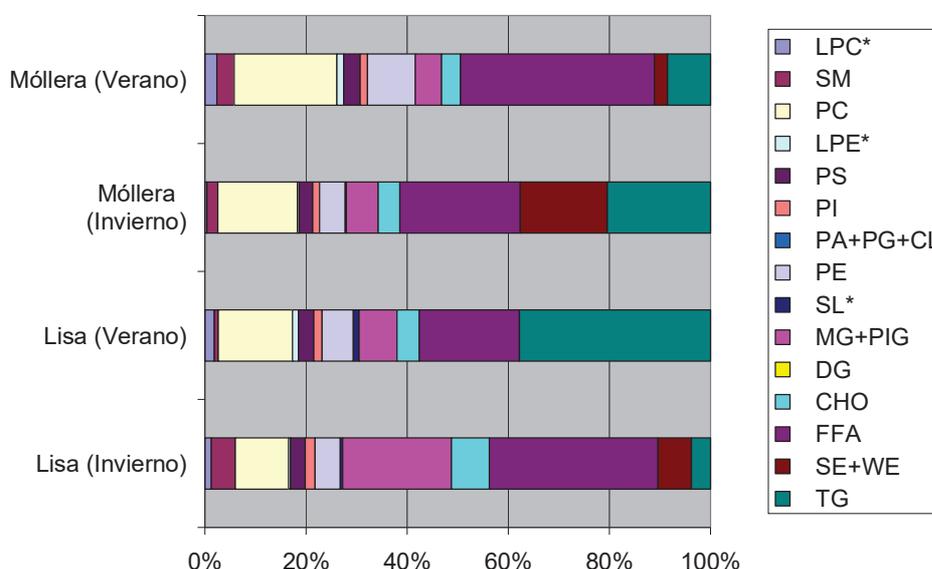


Figura 4. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en la lisa (*Mugil sp*) y la móllera (*Trisopterus minutus*) en diferentes estaciones del año.

Tabla 5. Contenido de las distintas clases de lípidos en la boga salvaje y la dorada (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie	Boga salvaje (<i>Boops boops</i>)						Dorada (<i>S. aurata</i>)	
	Murcia		Murcia		Canarias		Canarias	
	Origen	Estación	Origen	Estación	Origen	Estación	Origen	Estación
Lípidos polares (LP)	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
LPC*	3.67	2.43	57.55	1.85	48.47	10.25	N.d.	N.d.
SM	15.44	2.13	34.69	0.00	68.08	7.27	N.d.	N.d.
PC	22.35	5.54	188.49	84.47	105.50	7.13	428.80	26.34
LPE*	5.74	1.19	24.63	0.00	38.60	3.50	N.d.	N.d.
PS	12.39	0.65	N.d.	N.d.	62.66	1.48	N.d.	N.d.
PI	6.01	0.22	N.d.	N.d.	26.70	0.56	N.d.	N.d.
PA+PG+CL	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	102.17	7.91	N.d.	N.d.
PE	7.91	2.23	139.85	8.94	30.81	1.59	22.95	0.00
SL*	1.37	0.28	23.22	4.47	20.20	1.56	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	57.35	8.02	305.49	75.67	236.14	35.03	380.85	45.44
DG	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	56.01	8.58	N.d.	N.d.
CHO	37.13	6.44	75.98	9.31	70.17	7.33	81.48	16.03
FFA	195.99	25.57	316.82	39.20	497.92	114.50	561.95	0.57
SE+WE	17.59	0.80	69.18	9.37	46.98	5.11	37.60	35.22
TG	10.62	0.54	893.20	124.69	406.81	68.81	7674.72	358.30
LP (g/100)	0.07	19.03%	0.47	22.00%	0.50	27.69%	0.45	4.92%
LN (g/100)	0.32	80.97%	1.66	78.00%	1.31	72.31%	8.74	95.08%
Total (g/100)	0.39		2.13		1.82		9.19	
Observado (g/100)	0.42		2.18		2.00		11.80	
Diferencia (%)	6.30		2.33		9.14		22.13	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilglicérol; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil

diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

La boga salvaje procedente de pesquerías presentó un porcentaje de lípidos entre el 0,42 % en invierno y el 2,18 % en verano, con predominio de los lípidos neutros en todas las muestras analizadas (72-81 %). Los lípidos polares más abundantes fueron la PC (22-189 mg/100 g) y PE (7-140 mg/100 g), y además el PA (102,17 mg/100 g) en las muestras de Canarias. Entre los lípidos neutros destacaron los FFA en invierno y los TG en verano, con valores de hasta 893,20 mg/100 g en la boga procedente de Murcia. La dorada procedente del descarte de jaulas de cultivo destacó por su elevado contenido en TG (7674 mg/100 g), los cuales representaron más del 80 % de los lípidos analizados (Tabla 5 y Fig. 5).

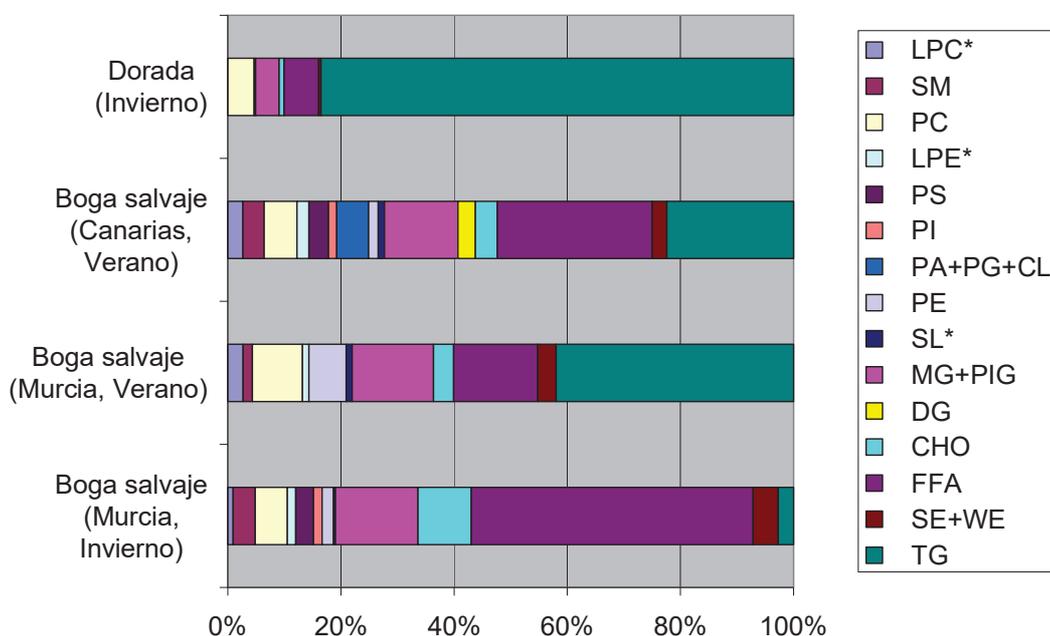


Figura 5. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en la boga salvaje (*Boops boops*) y en la dorada (*Sparus aurata*).

La sardina se caracterizó por valores extremadamente bajos de grasa en invierno (0,16 %) y elevados en verano (14,6 %). Este patrón estacional se basa en una acumulación de grasa en forma de TG en la época estival (9927,35 mg/100 g) y un predominio de los FFA (81,0 mg/100 g) y MG (28,8 mg/100 g) en invierno, aunque con valores que pueden considerarse bajos. Además, la presencia de lípidos polares fue indetectable durante el verano en esta especie. Por el contrario, la bacaladilla presentó un patrón de grasa más equilibrado entre lípidos polares (32-61 %) y neutros (39-68 %), con valores de grasa entre el 0,64 % en verano y el 2,19 % en invierno. Al igual que en otras especies de peces la PC (182-385 mg/100 g) y PE (97-114 mg/100 g) son los lípidos polares más abundantes. Los lípidos neutros de esta especie siguieron un patrón estacional distinto a la sardina, con mayor acumulación de TG (714 mg/100 g) y FFA (425 mg/100 g) en invierno (Tabla 6 y Fig. 6).

Tabla 6. Contenido de las distintas clases de lípidos en la sardina y la bacaladilla (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie Origen Estación	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)				Bacaladilla (<i>Micromesistius poutassou</i>)			
	Murcia		Murcia		Asturias		Galicia	
	Invierno	Verano	Invierno	Verano	Invierno	Verano	Invierno	Verano
Lípidos polares (LP)	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
LPC*	1.18	0.34	N.d.	N.d.	38.11	6.54	16.94	0.53
SM	6.02	0.26	N.d.	N.d.	59.02	5.60	18.27	0.94
PC	4.39	0.35	N.d.	N.d.	385.45	12.13	182.54	22.60
LPE*	0.94	0.11	N.d.	N.d.	2.46	1.00	5.95	1.36
PS	4.53	0.13	N.d.	N.d.	61.44	3.37	N.d.	N.d.
PI	2.12	0.00	N.d.	N.d.	30.06	0.87	11.22	1.01
PA+PG+CL	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	95.90	1.42	N.d.	N.d.
PE	1.08	0.26	N.d.	N.d.	114.16	4.39	97.49	11.36
SL*	0.70	0.18	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	28.81	4.51	1185.56	194.10	171.19	12.98	17.64	3.32
DG	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	80.64	7.31	8.31	1.76
CHO	10.58	1.21	90.64	11.28	103.53	3.57	41.56	5.21
FFA	81.00	1.59	1528.52	119.91	425.23	5.51	104.16	7.48
SE+WE	6.32	0.70	250.79	60.94	116.00	25.81	N.d.	N.d.
TG	8.10	0.71	9927.35	144.32	714.60	11.87	41.47	1.96
LP (g/100)	0.02	13.45%	N.d.	N.d.	0.79	32.81%	0.33	60.93%
LN (g/100)	0.13	86.55%	12.98	100.00%	1.61	67.19%	0.21	39.07%
Total (g/100)	0.16		12.98		2.40		0.55	
Observado (g/100)	0.16		14.62		2.19		0.64	
Diferencia (%)	2.65		11.20		9.49		14.76	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilglicérol; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilglicérol; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

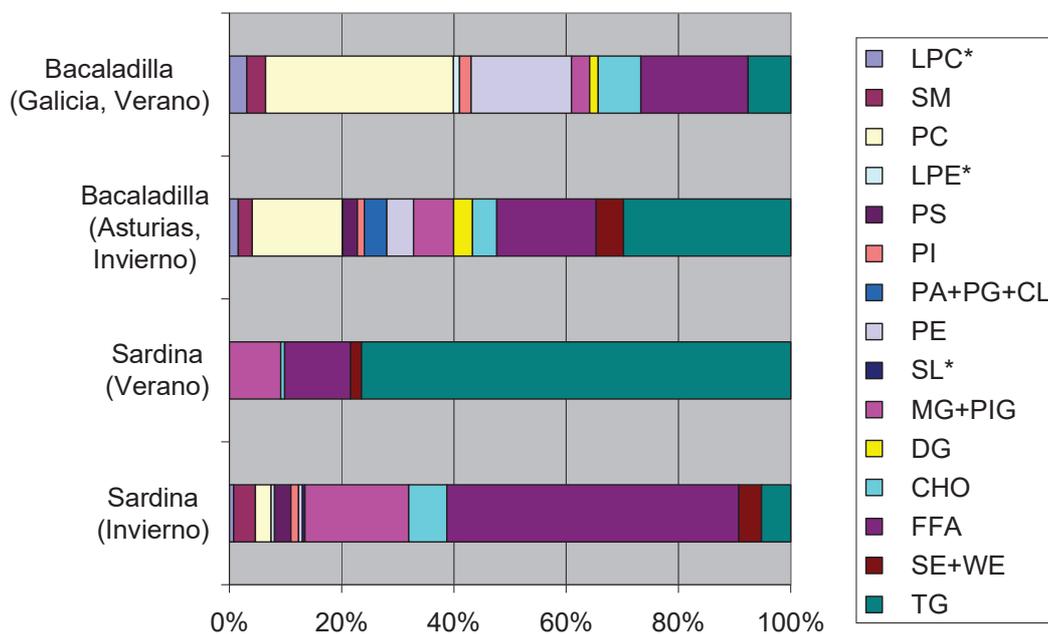


Figura 6. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) y la sardina (*Sardina pilchardus*) en diferentes estaciones del año.

Tanto el jurel (*Trachurus* sp.) como la boga (*Boops boops*) de descarte de jaulas marinas presentaron un predominio de lípidos neutros, constituyendo entre el 82,2 y 100 % del total de los lípidos. Entre éstos, los triglicéridos fueron mayoritarios, con valores entre 3741,2 mg/100 g en el jurel y 19664 mg/100 g en la boga de descarte. Entre los lípidos polares la PC fue la clase lipídica mayoritaria, tanto en la boga de descarte procedente de Canarias (379-596 mg/100 g) como en el jurel (447 mg/100 g), sin que se detectaran lípidos polares en la boga de descarte procedente de Murcia en invierno (Tabla 7 y Fig. 7).

Tabla 7. Contenido de las distintas clases de lípidos en la boga de descarte de jaulas marinas y en el jurel (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie Origen Estación	Boga descarte (<i>Boops boops</i>)						Jurel (<i>Trachurus sp.</i>)	
	Murcia		Canarias		Canarias		Asturias	
	Invierno		Invierno		Verano		Invierno	
	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Lípidos polares (LP)								
LPC*	N.d.	N.d.	71.40	0.00	N.d.	N.d.	73.08	17.61
SM	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	22.87	2.94
PC	N.d.	N.d.	379.80	27.36	596.34	32.36	446.83	86.73
LPE*	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PS	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	191.85	0.00
PI	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PA+PG+CL	N.d.	N.d.	299.72	2.33	N.d.	N.d.	181.31	20.48
PE	N.d.	N.d.	79.58	0.00	N.d.	N.d.	132.70	31.13
SL*	N.d.	N.d.	40.80	0.00	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	1393.11	237.28	297.59	54.95	550.61	87.78	366.27	23.42
DG	N.d.	N.d.	178.30	30.67	448.67	248.57	106.21	5.74
CHO	140.08	17.14	80.23	10.03	692.32	104.82	78.40	1.79
FFA	1365.29	55.45	398.61	63.96	503.55	136.90	424.20	35.05
SE+WE	454.04	37.35	N.d.	N.d.	83.95	67.65	141.16	29.51
TG	9499.19	458.10	6703.44	112.19	19664.26	1316.45	3741.20	76.68
LP (g/100)	N.d.	N.d.	0.87	10.22%	0.60	2.65%	1.05	17.76%
LN (g/100)	12.85	100.00%	7.66	89.78%	21.94	97.35%	4.86	82.24%
Total (g/100)	12.85		8.53		22.54		5.91	
Observado (g/100)	17.59		10.2		28.3		5.99	
Diferencia (%)	26.94		16.38		20.35		1.40	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

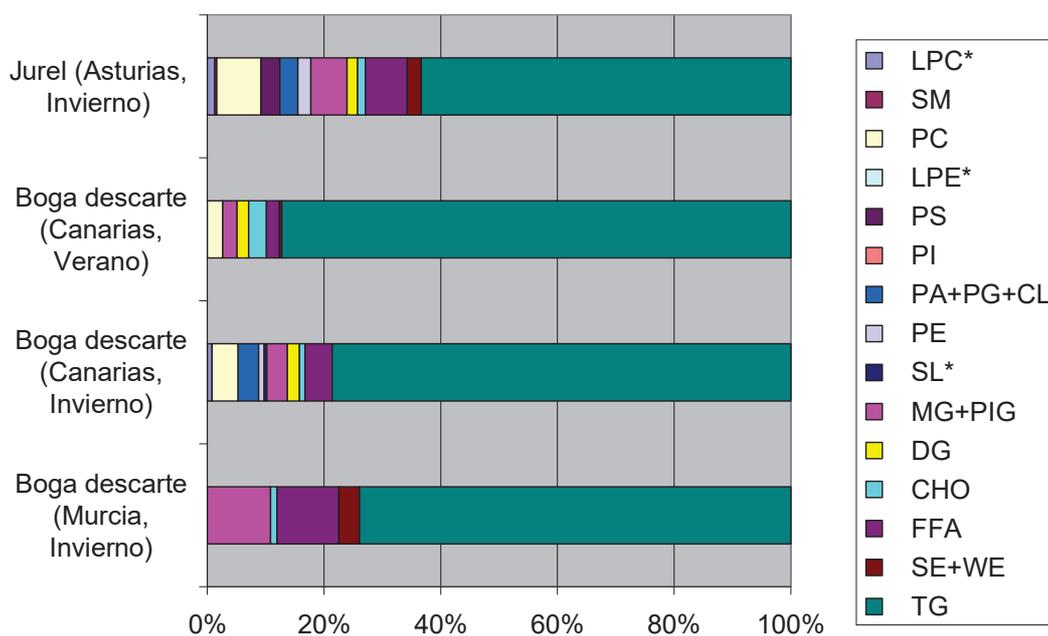


Figura 7. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en la boga (*Boops boops*) de descarte de jaulas de cultivos marinos y del jurel (*Trachurus trachurus*).

Clases lipídicas en moluscos

En el caso concreto del pulpo común (*Octopus vulgaris*), las muestras con mayor contenido en lípidos totales fueron la glándula digestiva (1,5-2,6 %) y la gónada (1,0-1,9 %), observándose valores más bajos al analizar los animales completos (0,22-0,45 %) o el tejido muscular (0,20-0,29 %). Existió una gran variabilidad en las distintas clases de lípidos según el tejido analizado, predominando los lípidos polares en los animales completos (57,7-65,8 %), el músculo (63,1-65,4 %) y la gónada (57,6-58,0 %), y los neutros en la glándula digestiva (67,0-83,9 %). Los lípidos neutros más abundantes fueron el CHO en el tejido muscular (41-44 mg/100 g), los MG (498,9 mg/100 g) y FFA (406,4 mg/100 g) en la glándula digestiva durante el invierno y SE (498,8 mg/100 g) y TG (521,9 mg/100 g) durante el verano, y el CHO, SE y TG en la gónada en invierno (101,7-111,3 mg/100 g) y los TG en verano (343,3 mg/100 g). Respecto a los lípidos polares, la PC y PE fueron los más destacados en el músculo (42-62 y 36-52 mg/100 g, respectivamente), glándula digestiva (92-212 y 44-201 mg/100 g, respectivamente) y gónada (243-467 y 168-289 mg/100 g, respectivamente) (Tablas 8 y 9 y Figs. 8 y 9). Los resultados en otros cefalópodos como la pota (*Todarodes* sp.) y el calamar (*Loligo gayi*) fueron similares, destacando bajos contenidos lipídicos (1,32 y 0,45 %, respectivamente) y predominio de lípidos polares (56-78 %) sobre neutros (22-44 %). En la pota las clases mayoritarias fueron la PC, PE y CHO (452,8, 253,2 y 167,2 mg/100 g, respectivamente), y en el calamar la PC, PE, FFA y CHO (104,4, 103,6, 70,0 y 53,1 mg/100 g, respectivamente) (Tabla 10 y Fig. 10).

Tabla 8. Contenido de las distintas clases de lípidos en el pulpo común (*Octopus vulgaris*) considerando el animal completo o el tejido muscular (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie	Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)				Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)			
	Muestra				Músculo			
	Murcia		Murcia		Murcia		Murcia	
	Estación	Invierno	Verano	Verano	Invierno	Verano	Verano	Verano
Lípidos polares (LP)	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
LPC*	2.26	0.61	4.63	1.56	1.50	0.19	2.90	1.01
SM	3.23	0.68	7.23	0.22	4.28	0.28	7.65	0.86
PC	38.82	4.84	95.03	1.74	42.18	4.96	61.92	3.54
LPE*	3.14	0.45	5.33	2.05	1.28	0.44	3.21	0.31
PS	17.28	1.42	48.62	3.14	15.89	0.96	28.24	1.94
PI	14.78	2.74	34.41	4.33	14.81	1.30	25.24	0.95
PA+PG+CL	10.81	0.62	28.70	3.49	7.23	0.53	9.74	1.44
PE	33.36	2.29	73.33	6.95	36.69	4.18	51.38	3.67
SL*	1.51	0.27	N.d.	N.d.	3.35	0.16	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	18.72	3.21	49.13	3.23	6.78	0.46	20.29	1.21
DG	0.01	0.02	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
CHO	23.55	2.17	57.29	18.97	41.41	0.31	55.02	1.83
FFA	26.60	2.92	25.42	6.32	9.36	1.29	16.05	4.46
SE+WE	11.52	1.99	13.13	4.42	14.20	0.77	6.18	1.43
TG	11.21	0.69	9.56	1.25	2.44	0.04	3.27	0.33
LP (g/100)	0.13	57.75%	0.30	65.80%	0.13	63.16%	0.19	65.37%
LN (g/100)	0.09	42.25%	0.15	34.20%	0.07	36.84%	0.10	34.63%
Total (g/100)	0.22		0.45		0.20		0.29	
Observado (g/100)	0.21		0.56		0.21		0.29	
Diferencia (%)	3.24		19.32		4.10		0.38	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado

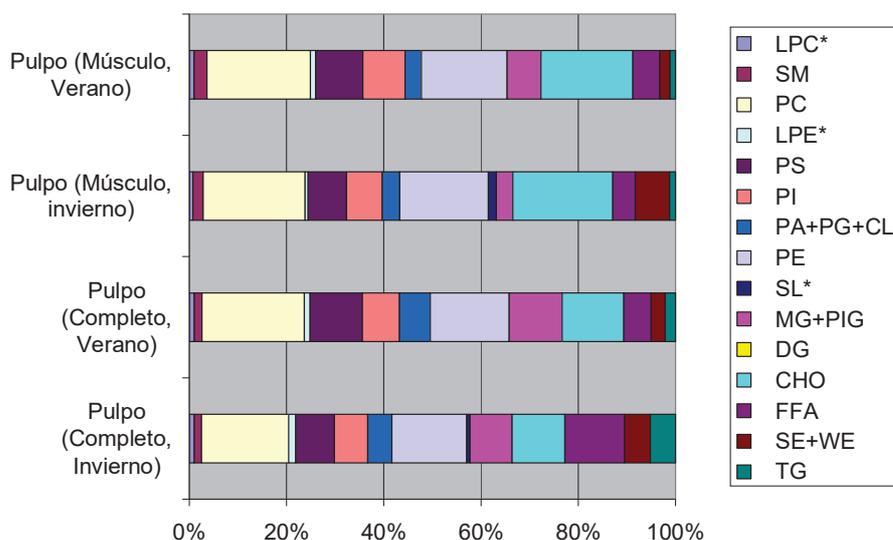


Figura 8. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en el pulpo (*Octopus vulgaris*) completo y en el músculo en distintas estaciones del año.

Tabla 9. Contenido de las distintas clases de lípidos en la glándula digestiva y la gónada de *Octopus vulgaris* (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie	Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)				Pulpo (<i>Octopus vulgaris</i>)			
	Glándula digestiva				Gónada			
	Murcia Invierno		Murcia Verano		Murcia Invierno		Murcia Verano	
Origen	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Lípidos polares (LP)								
LPC*	5.69	2.33	23.35	12.97	3.71	0.00	12.36	2.15
SM	N.d.	N.d.	2.14	2.11	15.47	0.67	44.67	7.10
PC	92.16	1.20	212.00	47.55	243.13	9.48	466.84	48.50
LPE*	3.63	0.00	40.87	6.75	6.76	0.06	5.02	2.65
PS	92.69	3.67	187.43	9.79	99.10	9.62	137.62	28.13
PI	N.d.	N.d.	108.60	21.43	47.02	3.36	94.45	22.85
PA+PG+CL	N.d.	N.d.	100.38	3.39	N.d.	N.d.	66.19	2.19
PE	44.71	11.19	201.18	85.99	168.64	2.13	288.93	10.78
SL*	4.48	2.85	N.d.	N.d.	16.69	1.11	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	498.98	83.34	231.93	36.71	49.81	5.12	84.83	9.12
DG	14.47	4.64	4.08	2.37	4.12	1.12	4.12	0.38
CHO	153.36	13.22	175.89	8.17	104.68	6.91	134.64	6.66
FFA	406.39	19.98	345.03	14.64	70.90	9.21	61.08	4.23
SE+WE	117.39	7.92	498.83	75.88	111.26	12.85	179.05	49.19
TG	80.00	3.69	521.91	30.84	101.73	10.50	343.26	93.99
LP (g/100)	0.24	16.07%	0.88	33.01%	0.60	57.57%	1.12	58.04%
LN (g/100)	1.27	83.93%	1.78	66.99%	0.44	42.43%	0.81	41.96%
Total (g/100)	1.51		2.65		1.04		1.92	
Observado (g/100)	1.58		2.78		1.03		1.97	
Diferencia (%)	4.18		4.55		1.26		2.38	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

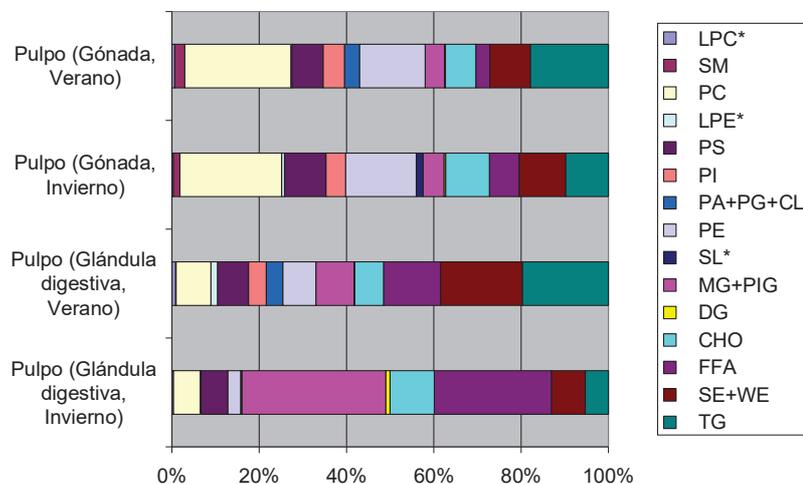


Figura 9. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en la gónada y la glándula digestiva del pulpo (*Octopus vulgaris*) en distintas estaciones del año.

Tabla 10. Contenido de las distintas clases de lípidos en el mejillón, la pota y el calamar (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie	Mejillón (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)				Pota (<i>Todarodes</i> sp.)		Calamar (<i>Loligo gahi</i>)	
	P.comestible				Alas y tentáculos		P.comestible	
	Asturias		Galicia		Galicia		Andalucía	
Origen	Invierno		Verano		Verano		Invierno	
Estación	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Lípidos polares (LP)								
LPC*	12.26	1.05	47.47	8.45	6.16	2.85	12.15	1.41
SM	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	68.15	15.21	15.79	4.74
PC	29.95	1.47	249.74	25.33	452.79	22.76	104.37	3.76
LPE*	16.99	3.38	N.d.	N.d.	18.88	2.15	10.49	0.45
PS	84.67	3.46	298.25	10.73	64.89	7.12	19.65	0.47
PI	21.26	3.20	78.22	1.17	36.91	2.79	8.15	0.27
PA+PG+CL	33.84	3.07	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	19.59	1.40
PE	44.11	3.61	392.07	21.51	253.17	5.49	70.00	1.35
SL*	1.96	0.31	14.11	2.20	51.55	8.84	9.30	0.70
Lípidos neutros (LN)								
MG+PIG	98.25	7.51	108.64	12.04	33.67	3.45	24.35	0.42
DG	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
CHO	47.76	5.01	151.17	8.37	167.25	13.05	53.13	2.88
FFA	157.66	15.14	213.69	17.01	54.69	7.74	103.64	8.99
SE+WE	50.67	12.04	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	24.04	2.31
TG	249.72	13.92	419.14	21.96	15.74	2.22	6.10	0.76
LP (g/100)	0.25	28.86%	1.08	54.75%	0.95	77.83%	0.27	56.05%
LN (g/100)	0.60	71.14%	0.89	45.25%	0.27	22.17%	0.21	43.95%
Total (g/100)	0.85		1.97		1.22		0.48	
Observado (g/100)	0.83		2.17		1.32		0.45	
Diferencia (%)	2.30		9.10		7.29		6.83	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

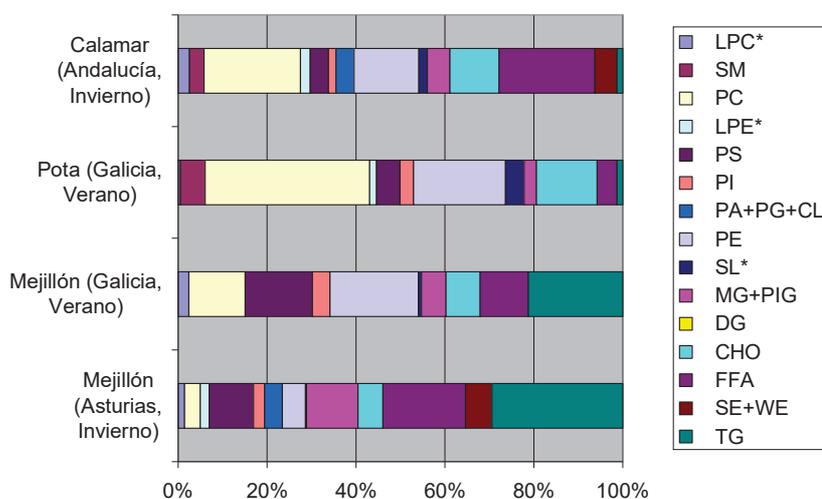


Figura 10. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en el calamar (*Loligo gahi*), la pota (*Todarodes sp.*) y el mejillón (*Mytilus galloprovincialis*).

En moluscos bivalvos como el mejillón *Mytilus galloprovincialis* existió un equilibrio entre lípidos neutros (45,2 %) y polares (54,8 %) durante el verano y un predominio de los lípidos neutros en invierno (71,1 %). Entre estos últimos destacó el contenido en TG (249,7-419,1 mg/100 g) y FFA (157,7-231,7 mg/100 g) y entre los polares el de PC, PS y PE (29,9-249,7, 84,7-298,2 y 44,1-392,1 mg/100 g, respectivamente) (Tabla 10 y Fig. 10).

Clases lipídicas en crustáceos

El contenido lipídico total se puede considerar bajo considerando todas las muestras analizadas, con valores que oscilaron entre el 1,05 % en el cangrejo común (*Carcinus maenas*) en invierno y el 1,67 % en la misma especie en verano. En los crustáceos predominaron los lípidos neutros (59,7-82,6 %) sobre los polares (17,4-40,2 %), existiendo una tendencia estacional hacia la acumulación de TG en verano (Fig. 11). Con excepción del cangrejo en verano, donde la clase predominante fueron los TG (458 mg/100 g), en todas las muestras restantes los FFA fueron la clase mayoritaria (312-870 mg/100 g). Además, entre los lípidos neutros caben destacar los MG (37-252 mg/100 g) y CHO (62-94 mg/100 g), y entre los polares la PC (83,6-176,6 mg/100 g) y PE (43,0-140,9 mg/100 g) (Tablas 11 y 12).

Tabla 11. Contenido de las distintas clases de lípidos en el cangrejo común (*Carcinus maenas*) (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie	Cangrejo (<i>Carcinus maenas</i>)					
	Muestra P.comestible		Murcia		Asturias	
Origen	Murcia		Murcia		Asturias	
Estación	Invierno		Verano		Invierno	
	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Lípidos polares (LP)						
LPC*	64.74	12.53	35.52	0.82	18.06	2.08
SM	41.77	4.43	51.20	5.28	31.76	5.97
PC	132.74	12.93	176.55	48.05	163.28	4.03
LPE*	13.74	1.58	10.35	1.64	3.94	0.22
PS	47.72	1.14	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PI	22.36	1.27	N.d.	N.d.	25.41	0.48
PA+PG+CL	49.16	2.25	47.68	3.77	51.51	5.51
PE	71.85	6.87	77.35	11.32	140.91	14.39
SL*	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)						
MG+PIG	252.34	12.95	140.66	14.30	66.03	10.85
DG	22.26	4.01	65.68	6.57	57.56	3.54
CHO	94.24	5.68	86.20	6.07	84.13	6.51
FFA	869.98	58.67	336.71	16.22	312.91	30.87
SE+WE	37.00	8.45	236.39	13.36	58.10	19.73
TG	22.08	1.20	458.00	3.48	66.99	0.75
LP (g/100)	0.44	25.49%	0.40	23.15%	0.43	40.24%
LN (g/100)	1.30	74.51%	1.32	76.85%	0.65	59.76%
Total (g/100)	1.74		1.72		1.08	
Observado (g/100)	1.67		1.67		1.05	
Diferencia (%)	4.31		3.13		2.92	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

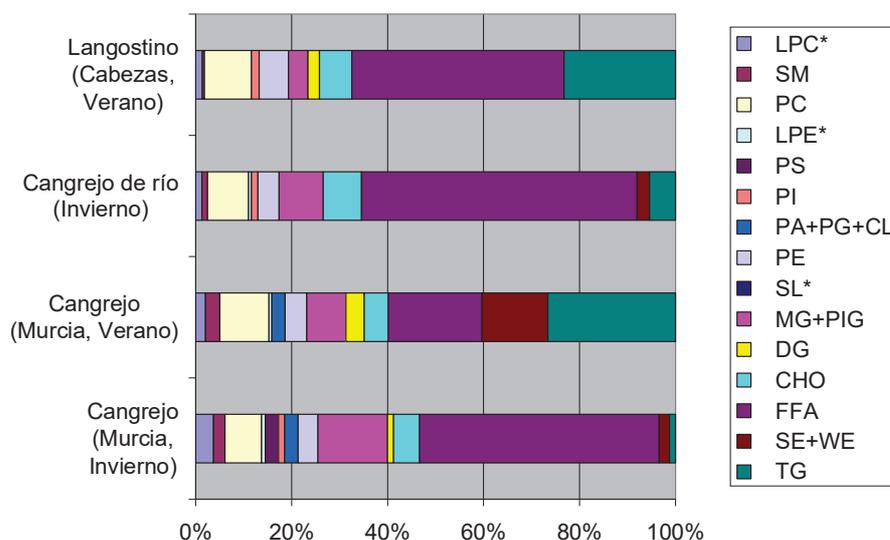


Figura 11. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en crustáceos.

Tabla 12. Contenido de las distintas clases de lípidos en crustáceos (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Especie	Cangrejo de río (<i>P. clarkii</i>)		Langostino (<i>Pennaeus</i> sp.)	
	Muestra	Origen	Muestra	Origen
	P.comestible	Andalucía	Cabezas	Galicia
	Invierno		Verano	
Lípidos polares (LP)	Means	Std.Dev.	Means	Std.Dev.
LPC*	12.59	1.75	12.86	2.73
SM	11.79	2.60	3.91	0.78
PC	83.56	8.07	90.17	8.52
LPE*	5.78	0.28	N.d.	N.d.
PS	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PI	13.15	0.00	14.64	0.07
PA+PG+CL	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PE	43.03	2.19	56.09	14.57
SL*	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)				
MG+PIG	89.91	6.90	37.26	10.16
DG	N.d.	N.d.	22.01	1.94
CHO	78.05	3.28	62.11	2.34
FFA	561.35	24.05	406.34	12.13
SE+WE	25.47	2.93	N.d.	N.d.
TG	52.82	4.81	213.23	22.58
LP (g/100)	0.17	17.38%	0.18	19.34%
LN (g/100)	0.81	82.62%	0.74	80.66%
Total (g/100)	0.98		0.92	
Observado (g/100)	1.09		1.09	
Diferencia (%)	10.32		15.72	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomieline; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilglicerol; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilglicerol; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteros; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

Clases lipídicas en harinas

El contenido total de lípidos fue superior en las harinas de origen animal marino (8-24 %) respecto de las harinas vegetales (1-5 %), existiendo además importantes variaciones en las distintas clases lipídicas. En estas últimas, existió un equilibrio entre lípidos neutros (43,8-66,9 %) y polares (43,1-56,2 %), siendo la clase mayoritaria los TG en todas ellas, con valores que oscilaron entre 251,1 mg/100 g en la harina de girasol y 1014,9 mg/100 g en la de guisante. La PC fue la segunda clase lipídica mayoritaria, tanto en la harina de girasol (185,4 mg/100 g) como en la de guisante (809,5 mg/100 g), no obstante, en la harina de soja fueron los FFA (211,0 mg/100 g) y en la de trigo los SL, MG, FFA y PC con contenidos similares (150-176 mg/100 g) (Tabla 13 y Fig. 13).

Tabla 13. Contenido de las distintas clases de lípidos en harinas vegetales (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Muestra Origen	Harina de soja Valencia		Harina de girasol Valencia		Harina de guisante Valencia		Harina de trigo Valencia	
	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Lípidos polares (LP)								
LPC*	45.33	2.33	26.62	2.91	60.49	5.82	13.30	2.92
SM	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	6.61	1.80	N.d.	N.d.
PC	160.19	74.68	185.39	9.17	809.52	32.10	172.45	7.83
LPE*	18.49	6.09	5.48	1.24	20.09	4.65	N.d.	N.d.
PS	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	52.92	0.00
PI	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	26.91	1.98
PA+PG+CL	180.49	60.88	149.73	13.35	655.66	62.32	57.70	9.87
PE	183.92	88.07	53.91	2.88	470.48	20.51	44.97	10.14
DGDG*	55.29	6.86	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
SL*	14.74	3.29	35.23	2.54	136.42	3.95	176.52	15.04
MGDG*	67.71	12.97	19.37	4.70	127.22	18.70	71.81	7.64
PIG*	78.28	16.60	80.28	11.95	160.32	31.86	N.d.	N.d.
Lípidos neutros (LN)								
MG	127.36	49.60	113.78	13.14	325.15	29.18	176.02	19.36
DG	18.17	4.97	3.08	1.17	19.82	8.26	25.38	3.62
CHO	29.94	0.59	14.32	2.06	155.84	19.14	70.80	8.41
FFA	211.03	17.08	72.53	8.29	186.20	11.14	150.83	35.11
SE+WE	N.d.	N.d.	0.10	0.21	6.14	2.27	42.63	6.01
TG	676.26	96.13	251.24	12.92	1014.88	74.49	638.88	29.90
Desconocidos*	N.d.	N.d.	88.54	8.37	198.28	29.78	140.77	18.29
LP (g/100)	0.80	43.08%	0.56	50.56%	2.45	56.21%	0.62	33.12%
LN (g/100)	1.06	56.92%	0.54	49.44%	1.91	43.79%	1.25	66.88%
Total (g/100)	1.87		1.10		4.35		1.86	
Observado (g/100)	1.94		1.07		4.23		1.81	
Diferencia (%)	3.75		2.77		2.91		2.87	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil diacilgliceroles; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

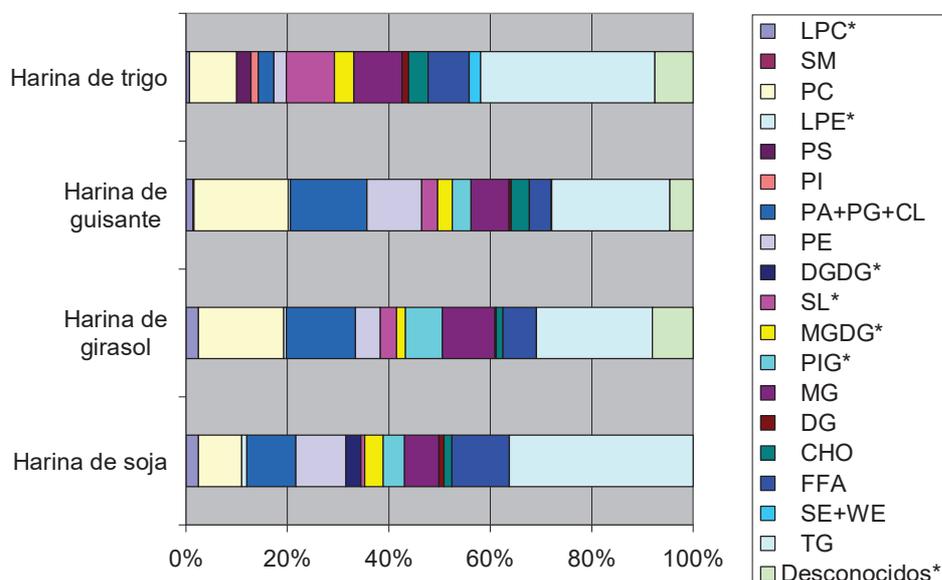


Figura 13. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en harinas vegetales.

Tabla 14. Contenido de las distintas clases de lípidos en harinas de origen animal marino (mg/100 g de muestra en peso húmedo).

Muestra Origen	Harina de krill Valencia		Harina de pescado Valencia	
	Means	Std.Dev.	Media	Desv. Est.
Lípidos polares (LP)				
LPC*	1085.23	92.07	343.94	47.63
SM	N.d.	N.d.	19.11	5.53
PC	6039.97	382.84	387.28	31.14
LPE*	N.d.	N.d.	76.36	15.96
PS	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PI	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
PA+PG+CL	806.68	39.53	202.34	5.18
PE	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
SL*	184.26	53.29	42.22	16.51
CE*	N.d.	N.d.	71.91	8.00
PIG*	N.d.	N.d.	197.69	63.50
Lípidos neutros (LN)				
MG	734.59	75.91	412.11	120.56
DG	168.89	109.86	36.67	16.15
CHO	596.73	120.93	207.54	16.74
FFA	1757.82	349.87	2174.53	45.75
SE+WE	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
TG	11319.84	779.14	2971.42	63.28
Desconocidos*	459.46	70.14	N.d.	N.d.
LP (g/100)	8.12	35.05%	1.34	18.77%
LN (g/100)	15.04	64.95%	5.80	81.23%
Total (g/100)	23.15		7.14	
Observado (g/100)	23.93		8.08	
Diferencia (%)	3.25		11.60	

LPC: Lisofosfatidilcolina; SM: Esfingomielina; PC: Fosfatidilcolina; LPE: Lisofosfatidiletanolamina; PS: Fosfatidilserina; PI: Fosfatidilinositol; PE: Fosfatidiletanolamina; PA/CL/PG: Ácido fosfatídico, Cardiolipina, Fosfatidilglicerol; DGDG: Digalactosil diacilgliceroles; SL: Sulfolípidos; CE: Cerebrósidos; MGDG: Monogalactosil

diacilglicerol; PIG: Pigmentos; MG: Monoglicéridos; CHO: Colesterol; DG: Diglicéridos; FFA: Ácidos grasos libres; TG: Triglicéridos; SE: Esteroles; WE: Ceras.

*Estimado a partir del porcentaje que representa el área del pico respecto del total.

N.d. = No detectado.

En las harinas animales de origen marino predominaron los lípidos neutros (64,9-81,2 %) sobre los polares (18,8-35,0 %), siendo las clases predominantes los TG y los FFA en la harina de pescado (2971,4 y 2174,5 mg/100 g, respectivamente) y los TG y la PC en la harina de krill (11319,8 y 6039,9 mg/100 g, respectivamente) (Tabla 14 y Fig. 14).

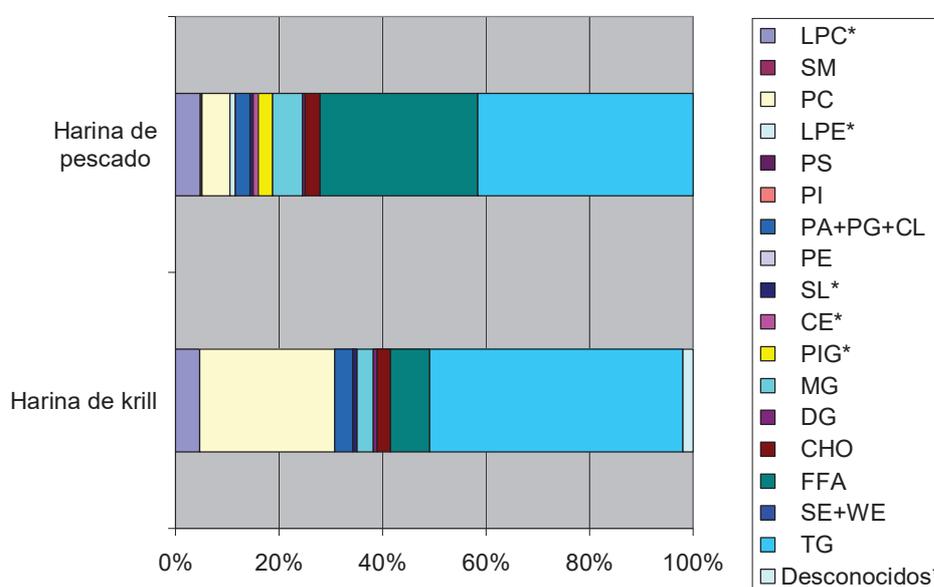


Figura 14. Distribución (%) de las distintas clases de lípidos en harinas de origen animal y marino.

2.1.6. Ácidos grasos.

ICCM, C.A. de Canarias. ESM-USC, C.A. de Galicia.

Análisis realizados por la Universidad de Santiago.

Material y métodos

Para analizar el perfil de ácidos grasos de los distintos productos pesqueros que iban a servir de materia prima (bacaladilla, pota, cabezas de langostino, patexo y mejillón) para la formulación de las dietas termo-formadas para pulpo, se extrajeron los lípidos totales (según Bligh & Dyer, 1959) de muestras de 50-100 mg de biomasa fresca, previamente triturada hasta la homogeneidad. Se utilizó el mismo procedimiento para las dietas termo-formadas producidas por el grupo de Tecnología del Pescado de la USC en el año de 2008, extrayéndose los lípidos totales de muestras de 100-200 mg de biomasa fresca. Las muestras se extrajeron con $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2 v/v), separando la fracción de lípidos totales mediante la adición de cloroformo y agua (1:1 v/v) seguido de una ligera centrifugación a 1500 rpm durante 3 min. Se transfirió la fracción lipídica a un nuevo tubo, añadiéndose 50 μl de una disolución 1 mg/ml de triheptadecanoína (Sigma) como estándar interno. Después de evaporar el cloroformo de los extractos lipídicos bajo flujo de nitrógeno, estos se sometieron a metanolisis durante 2:30 h a 85 °C mediante la adición de 2.5 ml de $\text{HCl}:\text{CH}_3\text{OH}$ (5% HCl) (Sato & Murata, 1988). Los metil-ésteres de ácidos grasos así obtenidos se separaron de la fase polar mediante una doble extracción con hexano. El volumen final de hexano se redujo a 200 μl para su análisis en un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (GC-MS) Perkin-Elmer 800-8000 Series, usando una columna Omegawax™ 250 fused silica (Supelco) de 30 m y 0.25 mm de diámetro. Las condiciones de análisis fueron las siguientes: volumen inyectado, 1 μl ; gas portador, He; flujo gas portador en la columna, 0.8 ml/min; relación split (1:99); temperatura inyector: 230 °C. Ciclo del cromatógrafo: tiempo "splitless" 1 min.; temperatura: 35 °C, 1 min.; rampa de 35 °C/min hasta 200 °C; 200 °C, 55 minutos. Ciclo de adquisición de espectros de masas: retardo del solvente, 4.5 min.; rango masas, 0,50-400; tiempo inter-scan, 30 seg. Los ácidos grasos fueron identificados mediante la comparación de los espectros de masas con los espectros contenidos en la librería de espectros de masas WIST/NBS. El cálculo de la concentración se realizó mediante la integración del área bajo los picos, que en el sistema GC-MS es directamente proporcional a la masa.

Resultados y discusión

En la tabla I se presentan los perfiles de ácidos grasos (AG) de los distintos productos analizados. Se puede observar que el ácido palmítico (16:0) ha sido el ácido graso presente en mayor porcentaje en todos los productos pesqueros (variando entre un 28-38%). De los ácidos grasos poliinsaturados, el mejillón presentó el mayor contenido en 20:5n-3 (16,4%), variando en los demás productos entre un 5,4 y un 9,5%. La bacaladilla y la pota, a su vez, han presentado el mayor porcentaje de 22:6n-3 (18,6% y 13,5%, respectivamente), mientras que los demás productos tenían entre un 3,3 y un 6,2%. La bacaladilla, el mejillón y la pota presentaron los mejores perfiles de ácidos grasos como materias primas para la formulación de las dietas, mayormente debido a los elevados porcentajes de 20:5n-3 y de 22:6n-3. La composición bioquímica general y el precio de cada uno de los productos analizados han de ser tenidos en cuenta a la hora de incluirlos en las dietas termo-formadas.

Tabla I. Composición de ácidos grasos (en % del total de ácidos grasos) y cantidad de ácidos grasos (en mg de ácidos grasos/g de biomasa fresca analizada) de los distintos productos pesqueros de descarte.

Ácido graso	Cabezas de langostinos	Mejillón	Patexo	Pota	Bacaladilla
	%	%	%	%	%
AG 12:0	0,2				
AG 14:0	7,6	4,2	8,6	2,7	3,4
AG 15:0	0,4	0,7	0,8	0,7	0,6
AG 16:0	27,6	35,5	31,6	36,3	38,0
AG 16:1n9	17,0	8,4	10,1	1,2	3,6
AG 16:1n7	0,3	1,1	0,5		
AG 16:2n4		0,4		0,3	0,3
AG 16:3n3		9,0	0,9	2,1	
AG 18:0	1,6	5,2	5,8	10,2	6,2
AG 18:1n9	23,1	0,8	13,0	3,0	12,5
AG 18:1n7	5,4	2,1	3,4	15,3	2,9
AG 18:2n6	0,5	1,0	0,6	0,2	0,9
AG 18:3n6		0,3	0,1		
AG 18:3n3	0,2	0,5	0,3		
AG 18:4n3	0,3	1,0	0,5		0,2
AG 20:0		0,5	0,2		0,4
AG 20:1n11		1,3		1,4	
AG 20:1n9	2,9	0,8	2,8		0,6
AG 20:1n7	0,8	0,6	0,2		
AG 20:2n6	0,1	0,3	0,3	0,3	
AG 20:4n6	0,4	1,7	1,2	3,9	1,6
AG 20:3n3	0,6				
AG 20:4n3	0,2		0,2	0,2	0,3
AG 20:5n3	5,4	16,4	9,5	7,0	9,4
AG 22:1n9	1,3	1,2	2,3	0,3	
AG 22:1n7	0,7		0,2		
AG 22:5n6	0,0			0,9	
AG 22:5n3	0,1	0,6	0,9	0,4	0,4
AG 22:6n3	3,3	6,2	5,8	13,5	18,6
Total (%)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Total					
(mg/g peso fresco)	14,75	7,40	5,50	5,72	3,75

En la tabla II se presenta la composición en AG totales de las distintas dietas que se usaron como base de las dietas termo-formadas. Se puede observar que los AG 16:0 y 22:6n-3 fueron los principales AG en todos los productos pesqueros (17-20% para el 16:0 y del 5-24% para el 22:6n-3).

Tabla II. Composición de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) y cantidad de ácidos grasos (en μg /mg de biomasa fresca analizada) de los distintos productos pesqueros o de mezclas de productos pesqueros seleccionados para formular las dietas termo-formadas.

Ácido graso	Bacaladilla Invierno	Cangrejo Invierno	Mejillón Invierno	Fiambre Lirio	Lirio G2%	Fiambre Lirio-Mej	Lirio-Mej G2%
AG 14:0	3,6	1,7	5,2	2,9	3,1	3,5	3,6
AG 15:0	0,8	1,1	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8
AG 16:0	17,0	18,4	20,3	19,2	19,1	20,0	19,8
AG 16:1n7	4,4	5,7	9,8	4,5	4,7	6,7	6,8
AG 16:2n4	---	---	1,0	---	---	0,7	0,6
AG 18:0	6,3	8,3	4,8	6,3	6,5	5,8	5,8
AG 18:1n9	15,9	12,3	2,2	20,2	19,9	12,5	11,8
AG 18:1n7	4,4	5,9	3,4	4,5	4,3	3,6	3,9
AG 18:2n6	1,6	1,0	1,3	4,7	1,6	4,6	2,1
AG 18:2n3	---	---	0,9	---	---	---	---
AG 18:3n3	0,8	1,4	0,8	0,9	0,6	1,0	0,9
AG 18:4n3	1,3	2,3	1,6	0,9	0,9	1,8	2,0
AG 20:1n11	---	---	1,2	---	---	0,1	n.d.
AG 20:1n9	3,9	1,2	2,0	2,6	3,1	2,5	2,9
AG 20:1n7	0,4	2,3	1,8	---	---	0,8	0,9
AG 20:2n6	0,2	1,3	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5
AG 20:4n6	2,0	7,8	4,1	1,8	1,8	2,4	2,7
AG 20:4n3	0,3	---	---	0,3	0,3	0,2	0,3
AG 20:5n3	10,8	15,1	27,5	9,4	9,9	15,8	16,8
AG 22:1	1,4	2,5	---	1,1	1,2	0,5	0,5
AG 22:2	---	---	2,6	---	---	0,8	1,0
AG 22:3	---	---	0,7	---	---	---	---
AG 22:5n3	0,9	2,6	1,9	0,3	0,5	0,7	0,9
AG 22:6n3	24,1	9,1	5,8	19,5	21,4	14,8	15,4
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Total AG (microg/mg peso fresco)	11,12	5,06	17,43	10,00	9,99	10,93	11,71

(---) no detectado

Análisis realizados por el ICCM.

Los ácidos grasos de las muestras recibidas de las diferentes comunidades quedan reflejadas en las Tabla 1 (verano 2007) y 2 (invierno 2008). En el protocolo se aislaron de la grasa bruta por transmetilación (Christie, 1982) y separados por Cromatografía de Gases según Izquierdo *et al.* (1990).

Tabla 1: Composición de ácidos grasos (% ácidos grasos totales) de las muestras de verano 2007 enviadas por los distintos grupos de investigación.

Verano 2007	FAMES (%)	Saturad	Monoen	n-3	n-6	n-9	n-3 HUFA	ARA	EPA	DHA
	Sardina	36	23	34	4	12	31	0,8	9,3	19,0
	Boga	37	19	35	8	9	32	2,5	6,0	23,1
	Cangrejo	35	28	19	13	14	16	4,5	4,5	9,6
Murcia	Pulpo entero	36	11	37	13	6	30	9,6	10,9	16,9
	Gl. Digest.	30	14	39	14	7	34	9,3	11,9	20,1
	Músculo	47	11	29	11	7	21	7,5	8,5	10,8
	Gónada	38	14	32	15	9	27	10,7	9,4	16,6

IRTA	Lisa	30	19	39	9	12	38	5,9	11,7	25,0
	Mollera	40	22	28	8	10	13	1,8	5,2	4,2

Tabla 2: Composición de ácidos grasos (% ácidos grasos totales) de las muestras de invierno 2008 enviadas por los distintos grupos de investigación.

Invierno 2008	FAMES (%)	Saturad	Monoen	n-3	n-6	n-9	n-3 HUFA	ARA	EPA	DHA
IRTA	<i>T. minutus</i>	59	27	4	3	16	2	0,2	0,6	1,1
	<i>M. cephalus</i>	55	34	5	2	23	2	0,3	0,9	1,2
Santiago	Lirio	31	35	28	4	24	26	1,5	6,6	18,3
	Mejillón	28	24	37	6	11	33	3,5	23,9	7,2
Asturias	Cangrejo	24	31	27	12	16	22	5,6	11,1	8,9
	Jurel	32	36	26	3	17	24	1,0	6,8	14,8
	Lirio	30	33	32	4	24	30	1,4	7,9	21,1
	Mejillón	29	28	32	7	13	26	3,2	14,6	10,1
Murcia	Sardina	36	11	46	5	6	44	1,5	7,5	34,5
	Boga desc.	27	35	14	22	26	11	0,5	2,6	6,3
	Boga salvaje	35	14	42	7	7	39	2,2	7,1	30,5
	Cangrejo	23	33	24	14	12	19	6,1	8,2	8,2
	Pulp entero	27	17	43	12	12	38	6,8	13,3	22,4
	Glán. Digest.	26	21	38	13	10	34	8,4	10,6	21,6
	Músculo	27	17	46	10	12	40	6,5	14,9	23,4
Gónada	26	20	36	16	15	33	10,6	11,4	20,0	
Valencia	Harina pescado	29	35	30	4	17	25	0,5	9,3	13,8
	Aceite pescado	26	38	27	7	24	23	0,8	7,8	11,9
	Krill	41	35	18	3	16	15	0,4	9,4	5,0
	Trigo	22	20	5	52	18	1	0,0	0,4	0,3
	Girasol 1	20	27	3	49	27	1	0,0	0,7	0,2
	Girasol 2	19	29	2	48	28	2	0,0	0,8	0,2
	Soja	17	27	6	51	25	1	0,0	0,3	0,2
	Desconocido	22	19	6	52	17	1	0,0	0,4	0,0

Bibliografía

- Christie, W.W. 1982. *Lipid Analysis*. 2nd Rev. Ed., Pergamon Press, Oxford, p. 201.
- Izquierdo, M.S., T. Watanabe, T. Takeuchi, T. Arakawa and C. Kitajima. 1990. Optimum EFA levels in *Artemia* to meet the EFA requirements of red sea bream (*Pagrus major*). In: *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture* (M. Takeda and T. Watanabe, eds). Tokyo Univ. Fisheries, Tokyo, Japan, pp. 221-232.

2.1.6. Colesterol.

ETTP-USC, C.A. de Galicia.

El análisis de colesterol se realiza según Saldanha *et al.* (2006). En la Tabla 1 se indican los valores medios de colesterol de las muestras obtenidas como residuos de las plantas de transformación de los productos de la pesca. En la Figura 1 se representa el valor medio del contenido de colesterol de las diferentes muestras enviadas por los grupos participantes en el proyecto correspondientes a la época estival: Lisa (*Lisa spp*) y Mollera (*Trisopterus minutus*) por parte del grupo de investigación del IRTA, sardina (*Sardina pilchardus*), Boga (*Boops boops*), Cangrejo (*Carcinus mediterraneus*), y el músculo de pulpo (*Octopus vulgaris*) por el grupo del IMIDA; el resto de especies corresponden al grupo de investigación de Galicia. En la Figura 2 se representa el valor medio de colesterol obtenidos para el pulpo (entero) y sus partes (glándula digestiva, gónadas y músculo), muestras enviadas por el grupo de investigación del IMIDA.

En cuanto a los niveles de colesterol, el grupo de los invertebrados aportan la mayor cantidad (pota, camarón y cangrejo, a excepción del patexo), en torno a 0,8 mg/g ($p < 0,05$); seguido por el grupo del lirio y pulpo (en torno a 0,35 mg/g; $p < 0,05$). En la Tabla 1, meramente como valor informativo de referencia, se incluye el contenido en colesterol de la merluza (sólo parte comestible), por ser un subproducto de lonja que acompaña a los restos de bacaladilla. Los resultados de colesterol obtenidos para las diferentes muestras consideradas materias primas en verano (Tabla 1), indican una mayor tasa de colesterol para el caso de mejillón cocido, cabezas de camarón y alas de pota (alrededor de 0,8 mg/g). A este grupo le sigue la bacaladilla (0,4 mg/g), el grupo de crustáceos decápodos y sardina (en torno a 0,2 mg/g), mientras que el resto de especies de peces se hallan por debajo de 0,2 mg/g. Los niveles mostrados por los invertebrados los hace interesantes como una fuente adicional de colesterol, sin ser una base importante en una futura dieta artificial dada su baja tasa de proteína.

Tabla 1. Valores medios de colesterol (mg/g) de las muestras correspondientes los residuos de la industria transformadora del pescado, verano 2007. Materias primas de Galicia.

Especie	Colesterol
Pota	0,89±0,09 ^a
Crustáceos	0,76±0,23 ^a
Mejillón	0,93±0,09 ^a
Bacaladilla	0,41±0,04 ^b
Merluza	0,29±0,11 ^b

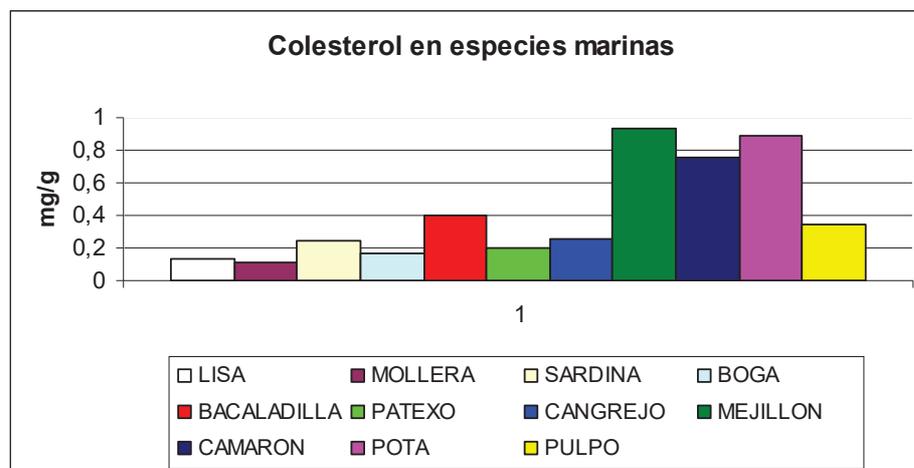


Figura 1. Contenido en colesterol de las distintas especies facilitadas por los grupos participantes del proyecto de época estival.

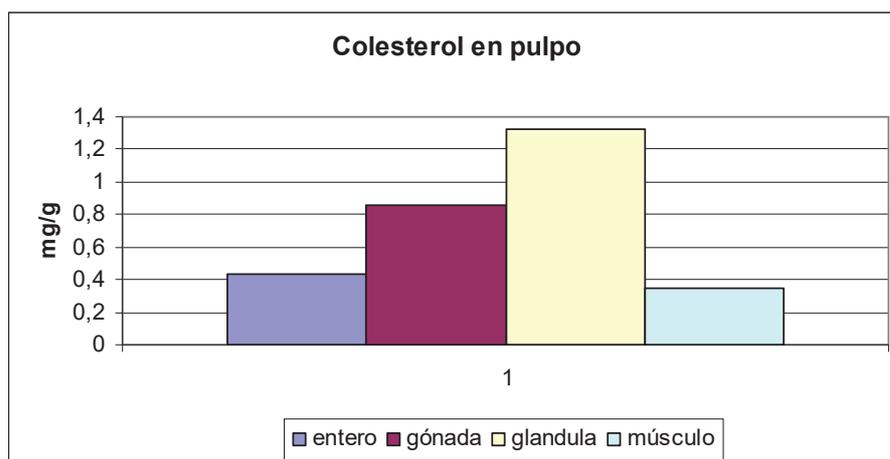


Figura 2. Contenido de colesterol de las diferentes partes anatómicas del pulpo común, *Octopus vulgaris*.

Los datos de colesterol recogidos en invierno indican que el grupo constituido por invertebrados cefalópodos decápodos (Calamar, Pota) es el grupo zoológico más rico en colesterol, seguido por los crustáceos, a excepción del cangrejo de río que es el que posee el contenido más bajo en relación a las restantes especies. En pulpo sigue a continuación en cuanto respecta a la parte comestible (tentáculos), sin embargo sus mayores niveles en sus órganos internos, incrementan el valor medio de colesterol cuando se procesa en conjunto. Finalmente, las especies de peces son las que menos tasa de colesterol presentan, con una tasa media entre 0,5 y 0,8 mg colesterol/g ($p < 0,05$).

El músculo de pulpo salvaje tiene una tasa de colesterol superior a la de los pescados blancos y crustáceos decápodos, mientras que en la composición de su gónada presenta unos niveles similares a los del mejillón y pota. La glándula digestiva presenta los mayores niveles de colesterol si se compara con el resto de materias primas. Todo ello indica que el colesterol parece jugar un papel importante en la fisiología del animal.

Tabla 2 Contenido medio de Colesterol (mg/g) de materias primas capturadas en invierno 2008.

MATERIA PRIMA INVIERNO 2008	
MUESTRA	Colesterol
Boc	0,635 ^a
Bos	0,757 ^a
Ca	0,692 ^a
Go	1,509 ^{b,c}
He	2,305 ^c
Hp	1,302 ^b
K	1,724 ^c
Mc	0,513 ^a
Mu	0,685 ^a
Pu	1,018 ^a
Sa	0,573 ^a
Tm	0,566 ^a
Cl	2,190 ^b
Cr	0,297 ^a
Cas	0,853 ^a
Jas	0,571 ^b
Las	0,611 ^b
Mas	0,767 ^{a,b}
MATERIA PRIMA VERANO 2007	
CasV	0,915 ^a
JasV	0,842 ^{a,b}
LasV	0,491 ^b
MasV	1,626 ^c

Boc: Boga cultivo (25-2-08); **Bos:** Boga salvaje; **Ca:** Cangrejo (13-3-08); **Cas:** Cangrejo Asturias Febrero 2008. **CasV:** Cangrejo Asturias (1-7-08). **Cl:** Calamar "Agua del Pino" IFAPA; **Cr:** Cangrejo de río "Agua del Pino" IFAPA; **Go:** Gónada pulpo; **He:** Hepatopáncreas pulpo; **Hp:** Harina de pescado (arena); **Jas:** Jurel Asturias (29-1-08); **K:** Krill (arena); **JasV:** Jurel Asturias Junio 2008; **Las:** Lirio Asturias (6-2-08); **LasV:** Lirio Asturias (25-6-08); **Mas:** Mejillón Asturias (6-2-08). **MasV:** Mejillón Asturias (9-6-08). **Mc:** *Mughil cephalus* (22-1-08); **Mu:** Músculo pulpo; **Pu:** pulpo completo (26-3-08); **Sa:** sardina; **Tm:** *Trisopterus minutus* (22-1-08).

A nivel estacional, todas las muestras presentan una tasa de colesterol ligeramente superior en invierno frente a verano, salvo algún caso puntual como el representado por el jurel y mejillón (fresco) asturianos. Así mismo, las especies de peces grasas contienen menos colesterol si se compara con especies magras, independientemente de la época de captura.

Conclusiones.

el colesterol es más abundante en cefalópodos decápodos, seguido por los crustáceos penneidos. Dentro del grupo de los peces teleósteos, el lirio o bacaladilla y en general especies magras son las que presentan mayor tasa de colesterol con respecto a especies grasas. Por otro lado, el lirio es una fuente interesante del ácido graso DHA.

2.1.7. Minerales específicos.

IMIDA, C.A. de Murcia.

Los minerales juegan un papel fundamental en la formación de estructuras esqueléticas, mantenimiento del equilibrio osmótico, múltiples procesos metabólicos e incluso como componentes de proteínas estructurales y funcionales como enzimas, hormonas y transportadores de oxígeno. No obstante, los requerimientos de minerales en cefalópodos son mal conocidos. Hasta la fecha, el calcio se ha resaltado como elemento importante para la formación de la concha en la sepia, el estroncio como esencial en la formación del estatolito y el cobre como componente de la hemocianina o pigmento transportador de oxígeno. Recientemente, Villanueva y Bustamante (2006) aportan datos que apoyan la importancia del cobre y del azufre en la dieta de los cefalópodos. Seguramente, al igual que en peces, los cefalópodos puedan extraer algunos minerales del agua, en cuyo proceso estaría implicado el apéndice de la glándula digestiva o páncreas (Wells y Wells, 1989), no obstante la mayoría debería ser aportado por la dieta debido a sus bajas concentraciones en el agua.

En el presente trabajo se hace una aproximación a la importancia relativa de cada mineral en la dieta del pulpo, a través de los análisis del contenido en minerales de los animales y de sus tejidos, así como en dietas naturales alternativas y materias primas susceptibles de ser empleadas en la elaboración futura de piensos para cefalópodos. Se ha determinado el contenido en macrominerales esenciales (Ca, K, Mg, Na, P y S), microminerales esenciales (B, Cu, Fe, Mn y Zn) y metales pesados (Cd, Hg y Pb), todos expresados en mg/Kg de peso seco.

Para la determinación de los minerales específicos las muestras (5-6 g para muestras en fresco y 2 g para liofilizadas) se incineraron en horno Mufla a 600 °C para eliminar toda la materia orgánica, solubilizando los minerales posteriormente en ácido HCL 2N mediante ebullición. La muestra resultante se llevó hasta un volumen final de 200 ml con agua destilada. La detección de los minerales se llevó a cabo por espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP) utilizando cinco patrones para la recta de calibración de cada mineral. Las λ de máxima emisión seleccionadas fueron las siguientes: B: 249.678, Ca: 445.478, Cu: 213.598, Fe: 238.204, K: 766.491, Mg: 280.270, Mn: 259.372, Na: 589.592, Zn: 213.857, P: 213.618, S: 181.972, Cd: 214.439, Pb: 220.353, Hg: 194.164. De todos los minerales obtenidos, los resultados obtenidos en cuanto al Hg y al S no deben considerarse definitivos. En el primer caso debido a los bajos valores obtenidos en algunas muestras y que quedaron fuera del rango de la recta de calibración, y en el caso del S debido a los bajos valores en comparación con los resultados de otros autores, por lo que se requiere de la revisión de la técnica. Los resultados del contenido en macrominerales, microminerales esenciales y metales pesados se muestran respectivamente en las Tablas 1, 2 y 3.

Como conclusiones generales se pueden destacar:

-Electrolitos: Valores extremos de Na en crustáceos y moluscos (especialmente en músculo), y de K en harinas de pescado y soja (Figura 1).

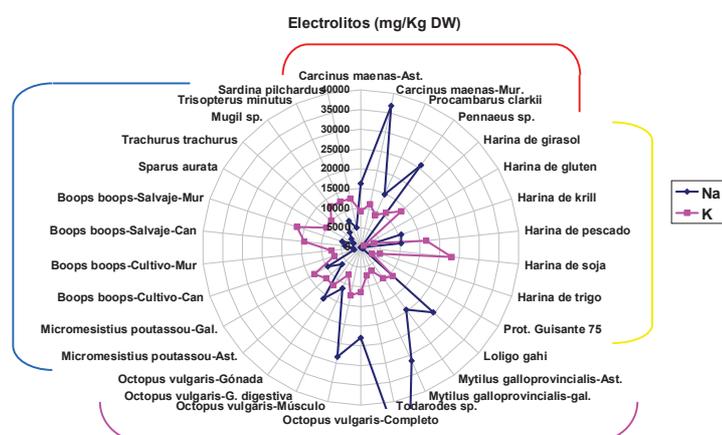


Figura 1. Comparación de los valores de los electrolitos Na y K en las distintas muestras analizadas.

-Elementos estructurales: Predominio del Ca y P en crustáceos y harinas de pescado y de krill (Figura 2).

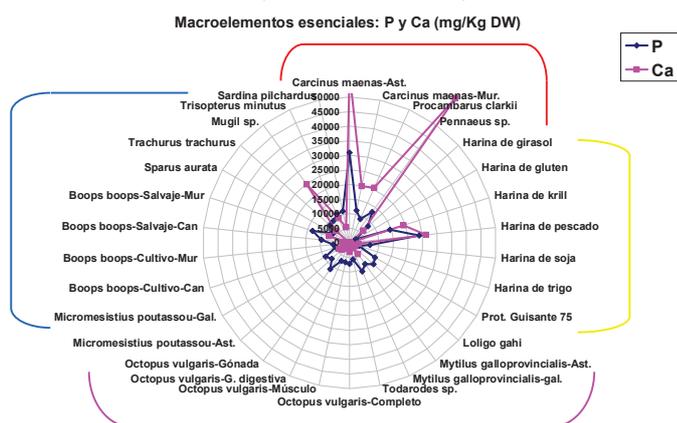


Figura 2. Comparación de los valores de elementos estructurales (Ca y P) en las distintas muestras analizadas.

-Microelementos esenciales (Cu, Fe y Zn; ver Figuras 3, 4 y 5):

- a) Todos especialmente elevados en glándula digestiva del pulpo.
- b) Zn abundante en gónada de pulpo, bivalvos, calamar, crustáceos y harinas de pescado, trigo y guisante.
- c) Cu abundante en crustáceos, calamar y harina de Krill.
- d) Fe abundante en crustáceos, bivalvos, mújol y harina de pescado.

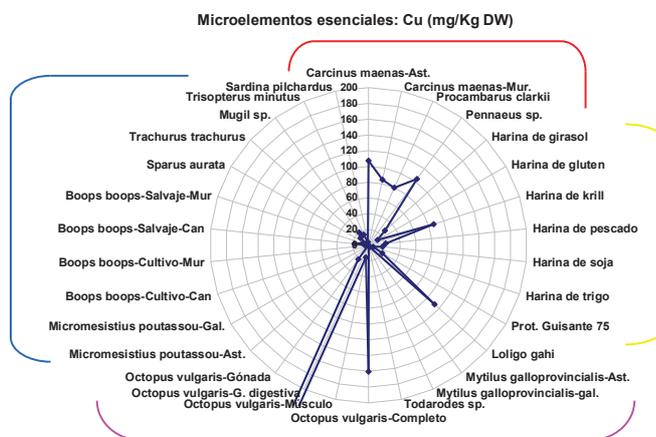


Figura 3. Comparación de los valores de Cu en las distintas muestras analizadas.

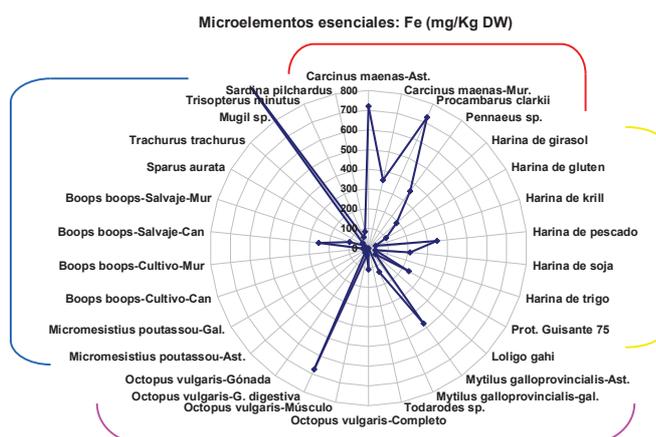


Figura 4. Comparación de los valores de Fe en las distintas muestras analizadas.

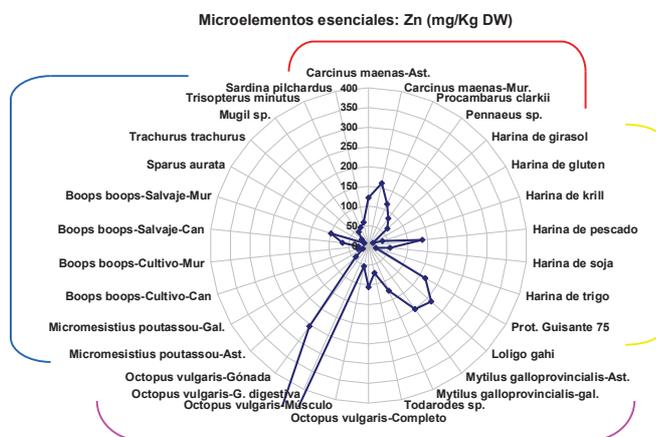


Figura 5. Comparación de los valores de Zn en las distintas muestras analizadas.

-Metales pesados: Acumulación en glándula digestiva de pulpo, Pb en Cangrejo (Murcia), Hg en Pota, y Cd en Calamar y Cabezas de langostino (Figura 6).

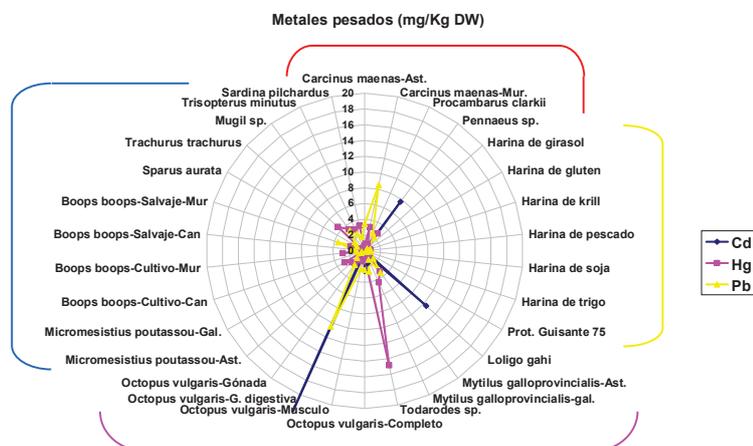


Figura 6. Comparación de los valores de metales pesados (Cd, Hg y Pb) en las distintas muestras analizadas.

Por lo tanto, en el caso concreto del pulpo y según los resultados obtenidos, los electrolitos jugarían un papel mayoritario en sus tejidos así como en las dietas naturales preferentes. Por orden de importancia le seguirían el fósforo, el magnesio, el calcio y el azufre. Entre los microminerales esenciales cabe destacar el elevado contenido en cobre, sin embargo, éste es exclusivo de la glándula digestiva y no del músculo, de forma que el contenido en este tejido es similar al observado en distintas especies de peces. Estos resultados muestran la capacidad de concentración de la mayoría de los microminerales analizados en la glándula digestiva del pulpo, incluyendo además del Cu, el Fe, Zn y metales pesados como el Cd y Pb. No ocurre así con los electrolitos, los cuales prácticamente duplican su contenido en el tejido muscular respecto de la glándula digestiva. Finalmente el Zn, con independencia de la glándula digestiva, mostró valores excepcionalmente elevados en la gónada del pulpo en comparación con el resto de tejidos.

3.2. DIGESTIBILIDAD.

2.2.1. Bioquímica digestiva del pulpo.

GAV-UPV, C.A. de Valencia. Colabora IMIDA, C.A. de Murcia.

Con objeto de disponer de la información necesaria para modelizar cuantitativa y cualitativamente el proceso de digestión del pulpo (*Octopus vulgaris*) se ha llevado a cabo una caracterización funcional del tipo de enzimas presentes en diferentes segmentos del digestivo, con especial atención a las proteasas.

Material y métodos.

Ejemplares adultos de pulpo (n=14) fueron obtenidos a partir del stock mantenido en la planta de cultivos marinos del IMIDA (Murcia). Los ejemplares, de un peso comprendido entre 2 y 4 kg fueron sacrificados en período postprandial (4 horas después de la última comida) y mantenidos en hielo. Acto seguido los digestivos de los mismos fueron diseccionados cuidadosamente y fraccionados en diferentes secciones correspondientes a glándulas salivales anteriores y posteriores (GsA, GsP), buche (B), hepatopáncreas (HP), intestino (I) y ciego (C). Cada sección fue pesada y congelada a -80°C, y posteriormente liofilizada para su adecuada conservación hasta la preparación de los extractos enzimáticos. Éstos se prepararon pesando cantidades apropiadas de cada uno de los tejidos y homogenizando en agua destilada. Los extractos se centrifugaron (8.000 g, 15 min, 4°C), siendo utilizados los sobrenadantes para el ensayo de la actividad proteasa total mediante el método de Kunitz (1947). El perfil óptimo de actividad en función del pH se determinó en cada uno de los órganos, así como la variabilidad interindividual en las actividades de las glándulas salivales y hepatopáncreas. La actividad lipasa se determinó utilizando β -naftil caprilato según Versaw et al. (1989)

Resultados y discusión.

Los perfiles de actividad proteasa en función del pH, obtenidos en las diferentes fracciones de tejido, se resumen en la Figura 1. Se puso en evidencia una gran variabilidad en los mismos, con máximos identificados en la zona ácida (pH 2-5) en los extractos obtenidos en GSA, B, HP e I, y en la zona alcalina para GSp e I. Por otra parte, la complejidad de los perfiles obtenidos para algunos órganos demuestra la existencia de más de una enzima con actividad proteasa en el tejido analizado, algo especialmente evidente en las glándulas salivales, el ciego o el intestino. Los datos de actividad proteasa en los principales órganos (glándulas salivales y hepatopáncreas) de un total de 13 individuos (6 hembras y 7 machos) se detallan en la Tabla 1. Se evidenció el importante papel de las GSp en la proteólisis del alimento, dado que presentaban tanto una elevada actividad específica como por gramo de tejido. Por otra parte, aunque el hepatopáncreas presentaba una menor actividad por gramo de tejido, la contribución total a la producción de enzima resultó elevada dado el gran tamaño de dicha víscera. Las hembras mostraron siempre una mayor actividad proteasa que los machos, aunque las diferencias sólo resultaron significativas en los valores de actividad medidos en las GSp. Los valores de actividad lipasa medida en los mismos órganos se detallan en la Tabla II. Las tendencias generales son similares a las indicadas para la actividad proteasa.

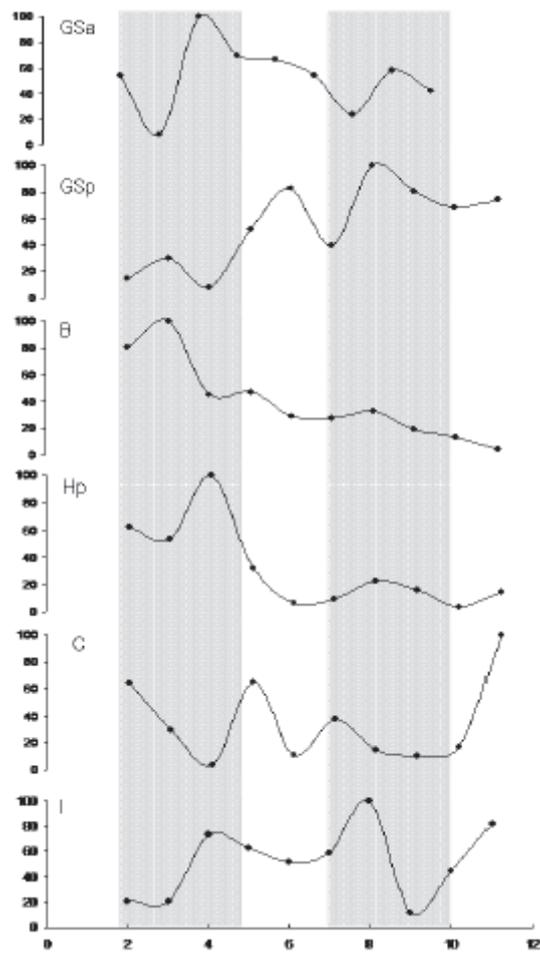


Figura 1. Perfiles de actividad proteasa en función del pH en diferentes órganos de *Octopus vulgaris*

Tabla 1. Actividad proteasa específica, por g de tejido, por individuo en glándulas salivares y hepatopáncreas de diferentes ejemplares de *Octopus vulgaris*.

SEXO	PESO (kg)	Gsa						Gsp						Hp					
		mU/ml	mU/mg PS	mU/g tejido s.s.	mU/kg pV	mU/ml	mU/mg PS	mU/g tejido s.s.	mU/kg pV	mU/ml	mU/mg PS	mU/g tejido s.s.	mU/kg pV	mU/ml	mU/mg PS	mU/g tejido s.s.	mU/kg pV	mU/ml	mU/mg PS
H	2,816	45,52	3,38	590,3	65,5	127,82	9,03	2558,4	1443,9	147,83	10,41	2958,5	4702,6	1670,0	22,39	1,751	457,7	510,754	18,023
H	1,986	5,90	0,43	118,1	30,3	55,28	3,94	1125,5	1325	57,34	4,00	1142,9	1345,8	674,7	38,58	2,963	791,7	21,637	10,840
H	3,048	ND	ND	ND	ND	195,47	13,43	3389,4	5002	105,04	12,75	3718,0	5393,6	1620,2	19,72	1,407	384,4	27,670	7,793
H	2,397	25,06	1,74	500,9	128,8	235,43	19,76	5718,6	6160	210,15	14,11	4203,1	4535,1	1892,0	79,45	5,334	1689,1	92,791	36,711
H	2,881	38,23	2,10	694,5	136,7	47,8	5,49	1635,2	2147	65,35	4,39	1307,0	1716,1	598,8	170,71	11,460	3414,2	274,962	96,307
H	3,018	28,50	1,98	570,8	91,8	65,36	1,55	1327,1	1605	165,24	11,09	3304,8	3355,3	1324,0	102,48	6,880	2049,7	73,970	24,480
M	2,811	42,18	3,0	663,9	284,1	16,41	1,76	328,2	760	32,39	2,29	647,7	316,7	712,7	21,76	1,016	423,2	28,032	10,207
M	2,864	36,23	2,08	694,5	101,5	39,15	2,69	783,0	869	70,70	4,11	1402,0	1536,3	676,7	55,13	4,282	1102,6	41,864	15,711
M	2,905	3,74	0,25	74,8	8,2	20,58	1,38	411,7	607	46,64	3,13	932,7	1334,3	473,1	43,90	3,303	878,0	52,159	17,955
M	3,057	1,58	0,11	31,7	6,8	123,79	8,67	2475,8	3777	138,04	9,87	2758,8	4211,3	1373,1	18,57	1,434	371,4	17,481	5,700
M	2,948	16,94	0,76	218,8	79,8	27,1	34,56	610,9	272	42,03	2,42	841,6	1444,8	490,1	67,22	5,117	1344,4	41,609	14,113
M	4,41	12,62	0,87	260,5	77,7	85,14	1,33	1942,9	2941	87,66	5,88	1761,2	2709,9	614,5	120,69	8,706	2603,8	167,290	35,669
M	4,034	11,52	0,80	230,3	66,1	128,11	8,63	2582,1	3419	133,58	8,37	2571,5	3565,4	833,8	184,10	12,358	3682,0	104,375	25,874
HEMERAS		27,84	1,93	556,8	114,4	135,92	6,76	2710,4	3497,7	138,54	9,46	2770,8	3615,0	1280,1	72,47	4,98	1449,6	90,278	32,659
SD		15,53	1,05	370,7	57,5	69,53	6,57	1790,6	2112,1	63,43	4,28	1268,7	1678,6	532,0	58,18	3,87	1163,6	94,428	32,979
MANCHOS		8,06	1,13	324,9	89,2	65,39	3,75	1387,8	1719,2	78,63	5,38	1572,6	2165,5	646,3	74,25	5,26	1485,0	82,889	17,887
SD		5,02	1,05	300,7	93,3	48,78	3,39	975,6	1567,5	43,21	2,96	864,3	1378,4	383,6	67,09	3,86	1221,9	75,932	10,047
TODOS		21,08	1,46	421,5	99,7	97,76	6,06	1955,1	2540,0	105,28	7,26	2125,7	2834,5	938,8	73,43	5,13	1468,6	76,790	24,710
SD		15,71	1,08	314,1	78,2	76,51	5,52	1530,2	1882,6	59,80	4,06	1196,1	1640,0	551,0	57,25	3,74	1145,0	71,758	23,713

Tabla 2. Actividad lipasa específica, por g de tejido, por órgano y por individuo, en glándulas salivares y hepatopáncreas de diferentes ejemplares de *Octopus vulgaris*

GSA					GSP					HP				
U/ml	U/mg PS	U/g tejido s.e.	U totales órgano	U/kg pV	U/ml	U/mg PS	U/g tejido s.e.	U totales órgano	U/kg pV	U/ml	U/mg PS	U/g tejido s.e.	U totales órgano	U/kg pV
0,527	0,12	15,5	1,0	0,4	1,9	0,09	37,9	54,2	19,9	1,3	0,03	26,0	2294,2	811,3
0,556	0,06	12,1	3,4	1,4	2,5	0,16	49,6	53,8	22,5	1,5	0,04	30,8	1795,7	749,1
1,69	0,05	33,9	6,3	2,2	1,8	0,12	32,9	52,3	18,6	1,5	0,04	30,0	326,6	116,0
0,52	0,05	15,5	6,1	2,2	2,1	0,15	41,5	29,5	7,3	0,7	0,02	14,6	997,1	354,7
0,74	0,05	14,5	2,5	0,9	1,9	0,13	38,6	42,3	15,9	0,6	0,02	12,4	470,7	176,7
0,62	0,07	12,4	3,2	1,0	2,6	0,18	51,1	68,2	30,2	0,6	0,02	12,0	328,7	164,7
0,84	0,07	16,9	1,8	0,6	2,5	0,17	49,8	73,4	25,3	1,4	0,03	27,4	1628,0	560,4
0,94	0,00	16,7	4,0	1,2	1,9	0,14	36,8	69,2	19,2	0,7	0,02	13,6	635,2	207,4
1,03	0,06	29,6	4,7	1,6	0,9	0,07	16,7	24,6	8,0	1,8	0,02	19,1	1637,9	537,5
1,29	0,10	21,1	3,9	1,3	2,0	0,14	39,8	48,1	18,9	1,1	0,03	21,2	741,8	263,3
0,85	0,06	17,8	5,7	1,6	1,7	0,12	34,7	59,5	14,2	1,6	0,04	32,7	2292,0	646,0
1,53	0,07	38,6	9,5	2,2	1,9	0,12	38,4	69,4	13,5	0,3	0,01	5,3	323,4	73,3
0,96	0,09	19,2	6,6	1,4	1,8	0,12	36,6	48,8	12,1	0,5	0,01	9,1	296,6	63,6
1,02	0,16	26,5	7,4	2,9	1,9	0,13	38,7	66,5	22,6	1,1	0,03	22,4	694,6	236,6
HEMBRAS														
0,94	0,07	18,79	4,01	1,48	1,89	0,12	37,86	49,09	18,66	1,23	0,03	24,69	1321,39	466,28
0,41	0,02	8,18	1,76	0,56	0,55	0,04	10,98	11,43	6,79	0,37	0,01	7,47	844,43	287,34
MACHOS														
0,99	0,08	19,89	5,27	1,88	2,02	0,14	40,41	52,88	16,55	0,75	0,02	14,97	716,22	238,83
0,25	0,04	5,06	2,72	0,71	0,22	0,02	4,45	17,66	6,26	0,30	0,01	7,61	473,09	173,10
TODOS														
1,00	0,08	20,0	4,9	1,6	1,96	0,13	39,2	50,7	17,4	0,96	0,02	19,3	927,1	318,3
0,21	0,02	6,2	2,7	0,8	0,42	0,02	6,5	15,0	6,6	0,45	0,01	9,0	670,4	229,6

2.2.2. Evaluación *in vitro* de la digestibilidad de ingredientes proteicos por las enzimas del pulpo.

UPV-GAB, C.A. de Valencia.

Objetivo: Realizar una primera estimación de la bioaccesibilidad de distintos tipos de proteínas de origen animal por las enzimas digestivas del pulpo común con objeto de orientar a la selección futura de ingredientes en los piensos para esta especie.

Material y métodos.

Para poder llevar a cabo la modelización de la digestión proteica en esta especie se seguirán los siguientes pasos:

Cuantificación de las proteasas presentes en distintas secciones y glándulas asociadas a su digestivo

Medida del pH óptimo al cual desarrollan su actividad las mencionadas enzimas

Estudios preliminares de caracterización habían puesto de manifiesto la gran importancia relativa que en el conjunto de las proteasas presentes en el digestivo del pulpo de tienen las enzimas de las glándulas salivares posteriores y del hepatopáncreas. Por otra parte, se comprobó que las proteasas localizadas en las glándulas salivares son preferentemente funcionales a pH alcalino, en tanto que las del hepatopáncreas lo son a pH ácido.

Establecimiento de la relación enzima:sustrato (E:S).

Resulta difícil conocer qué relación enzima:sustrato existe realmente en el digestivo de un animal dada la gran cantidad de factores que afectan a la secreción de las mismas, por lo que únicamente se realiza una estimación basada en:

- Medir la cantidad total de actividad en un órgano concreto
- Conocer la cantidad total de sustrato aportada en cada dosis de alimento
- Suponer que dicha actividad se libera completamente en presencia de dicha dosis de alimento
- Establecer la importancia relativa de cada etapa de la digestión

Igualmente se trata de una estimación que debe considerar que aunque la actividad específica de proteasas es menor en el hepatopáncreas, el tamaño de dicha víscera implica un gran volumen de secreción enzimática, por lo que la contribución total a la hidrólisis proteica resultaría significativamente mayor. En este sentido también el tiempo de hidrólisis es importante, ya la duración de cada etapa resulta diferente. En el caso del pulpo, el tiempo estimado de actuación de las proteasas presentes en las glándulas salivares se entiende prolongado, ya que esta especie realiza una importante manipulación del alimento y digestión extraoral para luego bombear el alimento parcialmente digerido al interior del digestivo y continuar con el proceso.

Considerando todo lo anterior, los ensayos se han llevado a cabo mediante una hidrólisis en dos fases en las que teniendo en cuenta el contenido en proteína de cada materia prima, se pesaron cantidades de cada una de ellas suficientes para incorporar 100 mg de proteína al sistema.

La primera etapa (en la que se usan las enzimas obtenidas de la glándula salivar posterior) se realizó a pH 8.0, tuvo una duración de 60 min y se emplearon 20 U de actividad en un reactor cerrado (E:S de 2 U/mg)

La segunda fase, en la que emplearon las enzimas obtenidas del hepatopáncreas, tuvo una duración de 120 min y se emplearon 100 U de actividad (una relación 5:1 frente a la actividad de la primera etapa y de 10 U/mg E:S) y se empleó el biorreactor de membrana para la retirada secuencial de los aminoácidos liberados que fueron cuantificados mediante la reacción con orto-phtaldehído OPA. El paso de la primera fase a la segunda finalizaba con una interrupción de la digestión alcalina mediante acidificación con HCL 0,1 M hasta llevar la solución al pH 6.0 utilizado en esta última.

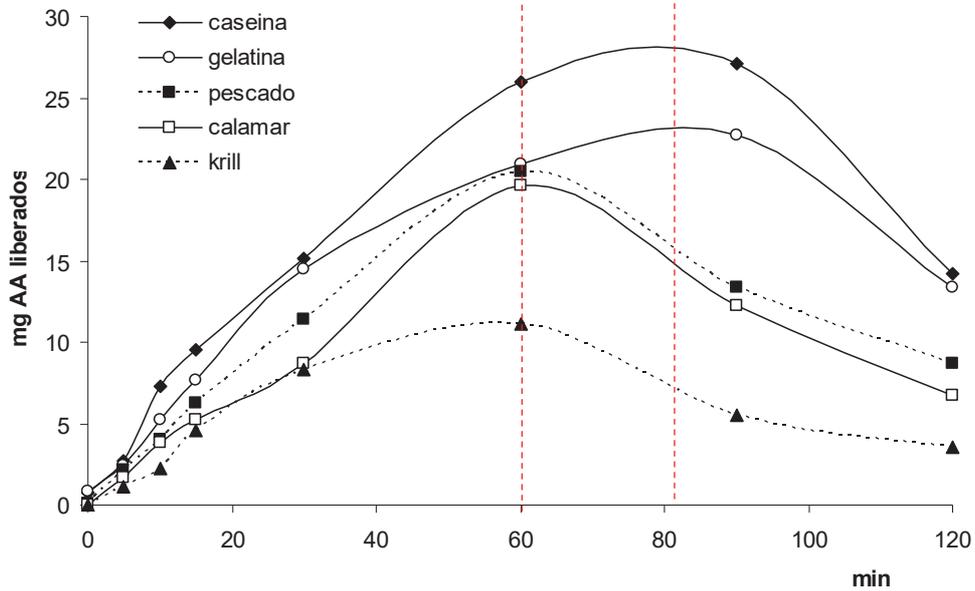
Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado. La comparación entre valores finales se llevó a cabo mediante ANOVA seguido de un test de rango múltiple. La comparación de la liberación progresiva de aminoácidos se llevó a cabo mediante análisis de la covarianza, utilizando el tiempo como covariable.

Resultados.

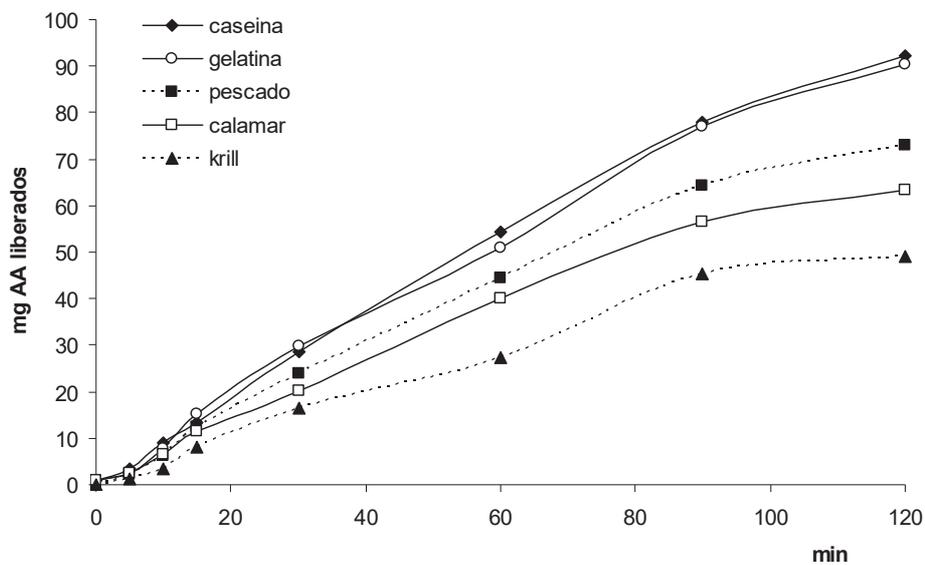
Los resultados obtenidos se detallan en las Figs. 1 y 2. En la Fig 1 se representa la cantidad de aa liberados en cada momento de muestreo, presentada tanto de forma absoluta como acumulada (suma hasta ese punto). Resultan evidentes las diferencias existentes en el curso de la hidrólisis de las distintas proteínas; así, la caseína y la gelatina muestran una hidrólisis no sólo cuantitativamente mayor, sino más mantenida, ya que alcanzan el máximo de liberación a los 80 min de iniciada la fase ácida de la digestión, en tanto que el resto de proteínas liberan menos aminoácidos y la hidrólisis parece disminuir a partir de los 60 min.

Utilizando como base los datos de producción acumulada de aa (Fig 1B) se realizó un ajuste lineal considerando sólo los valores hasta el minuto 90 de reacción. El análisis estadístico puso de manifiesto diferencias significativas tanto entre las pendientes como en los términos independientes de las ecuaciones. Por otra parte, un análisis del conjunto de los valores obtenidos para cada ingrediente, utilizando el tiempo como covariable evidenció diferencias significativas entre la mayor parte de los mismos (Tabla I)

El ajuste lineal de la liberación permite calcular varios parámetros que resultan útiles para comparar la hidrólisis realizada sobre las diferentes proteínas. Así por ejemplo, la pendiente de la ecuación indicaría la tasa promedio de hidrólisis, en mg de aa/min medida para cada proteína y que oscila desde los 0,5 mg/min en el caso del krill a los cerca de 0,9 mg/min para la caseína. La ecuación también puede ser utilizada para predecir el tiempo necesario para completar la hidrólisis de todo el sustrato presente en la reacción, simplemente despejando la "x" y substituyendo la "y" por la cantidad empleada en los ensayos (100 mg en el presente caso). De esta forma resultarían tiempos 3 h 20 min para completar la hidrólisis del krill o de algo menos de 2 h para la caseína o la gelatina.



A



B

Figura 1. Aminoácidos liberados durante el curso de la hidrólisis en las diferentes materias primas evaluadas (A); en cada punto de muestreo, (B); valores acumulados.

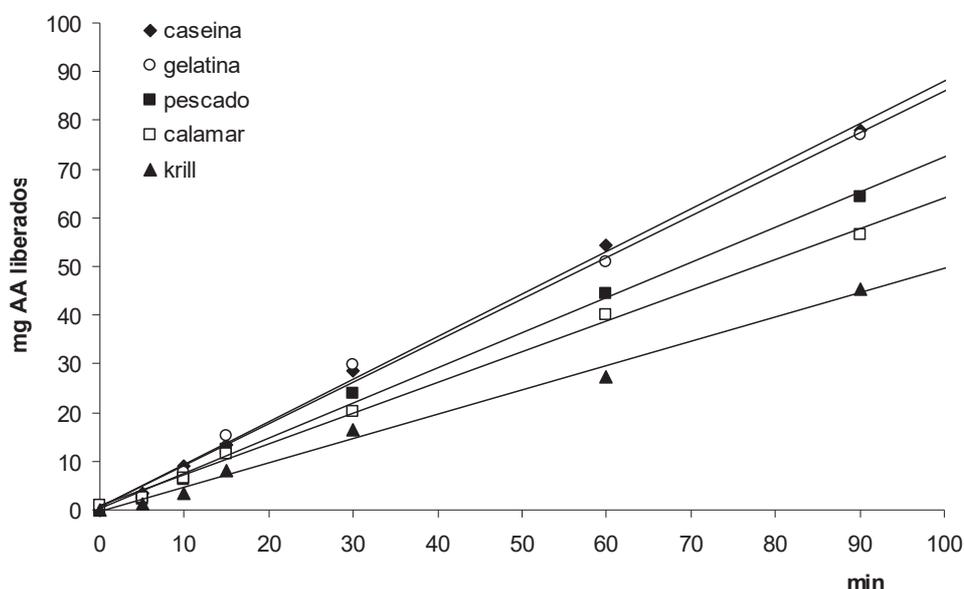


Figura 2. Ajuste lineal de la hidrólisis realizada sobre las distintas materias primas por las proteasas digestivas del pulpo.

Tabla I. Ecuaciones de ajuste lineal de la hidrólisis realizada sobre las distintas materias primas por las proteasas digestivas del pulpo. En las ecuaciones “y” representa la cantidad de aminoácidos liberados (en mg) y “x” el tiempo consumido (en min). Las diferencias representadas son el resultado de un análisis de la covarianza empleando el tiempo como covariable.

krill	$y = 0,5008x - 0,4527$	$R^2 = 0,9931$	x
calamar	$y = 0,6322x + 0,8028$	$R^2 = 0,9973$	x
pescado	$y = 0,7237x + 0,1939$	$R^2 = 0,9966$	xxx
gelatina	$y = 0,8544x + 0,6742$	$R^2 = 0,9946$	xx
caseína	$y = 0,8745x + 0,5692$	$R^2 = 0,9982$	x

Conclusión.

Se han observado claras diferencias tanto en la cuantía de la hidrólisis como en la velocidad de la misma ejercida por las proteasas digestivas del pulpo sobre las diferentes proteínas evaluadas

Las diferencias estarían fundamentalmente relacionadas con el grado de solubilización de las distintas proteínas (elevado en la caseína o la gelatina y más reducido en el caso de la h. de krill).

2.2.3. Caracterización de la actividad enzimática del jugo gástrico del pulpo a distintos pH. Digestibilidad in Vitro de distintas dietas, con jugo gástrico de pulpo.

IFAPA Centro “Agua del Pino”. Colabora C.A. de Galicia.

Introducción.

Octopus vulgaris y *Sepia officinalis* son especies con elevado potencial para la diversificación en acuicultura, debido a su elevado crecimiento (Domingues *et al.* 2006; Iglesias *et al.* 2007) y valor comercial. El engorde de *O. vulgaris* es llevado a cabo actualmente en Galicia, pero la viabilidad económica es baja, debido a la dependencia de juveniles capturados del medio natural, y la inexistencia de dietas artificiales (Iglesias *et al.* 2007), que son los dos principales cuellos de botella para el cultivo en gran escala de esta especie (Domingues *et al.* 2006).

El conocimiento de la fisiología digestiva y en particular de la forma en que operan las enzimas digestivas es de gran importancia para el desarrollo de dietas artificiales. Al ser los cefalópodos altamente dependientes de las proteínas, las enzimas proteolíticas son determinantes en la digestión y disponibilidad de nutrientes. Uno de los principales factores que afectan la actividad de las enzimas proteolíticas es el pH, debido a que de éste depende su estructura y capacidad de transformar los sustratos en el alimento (Murray *et al.* 2001).

Los cefalópodos realizan la digestión del alimento en dos fases, una extracelular y otra intracelular. La intracelular se lleva a cabo en la glándula digestiva mientras que la extracelular es el resultado de la degradación del alimento por la actividad de las enzimas que forman el jugo gástrico. Poco se sabe acerca de la actividad de las enzimas digestivas intra y extracelulares en cefalópodos. Estudios recientes han demostrado que las enzimas digestivas intracelulares de *Dosidiscus gigas* tienen su máxima actividad en pH 4,5 (Cardenas y Haard, 2009), mientras que en *S. officinalis* se han observado pH's óptimos para esas mismas enzimas de entre 8 y 8,5 (Perrin, 2004).

Tomando en consideración la importancia que tiene el conocer la fisiología digestiva como base para la formulación de alimentos preparados, este estudio fue diseñado con el fin de evaluar el efecto del pH en las principales proteasas digestivas presentes en el jugo gástrico de *O. vulgaris* y *S. officinalis*. Con esta información, se puso en marcha un sistema de digestibilidad *in vitro* (pH stat) en el que se evaluó la capacidad digestiva del jugo gástrico de *O. vulgaris* sobre 10 dietas.

Material y métodos.

Para el estudio de la actividad enzimática y las pruebas de digestibilidad *in vitro* se utilizaron muestras de jugo gástrico de 5 pulpos *O. vulgaris* con un peso de $1102,3 \pm 198,1$ g. Los animales fueron mantenidos en ayuno 24 horas antes de ser sacrificados, para lo que previamente fueron anestesiados en hielo durante 3 minutos. El jugo gástrico de cada uno fue extraído, dividido en alícuotas de 100 μ l, y conservado a -80°C hasta su análisis. Se utilizó un método de engaño para

que los pulpos generaran suficiente volumen de jugo gástrico, que consistió en enseñarles alimentos sin que pudieran comerlos.

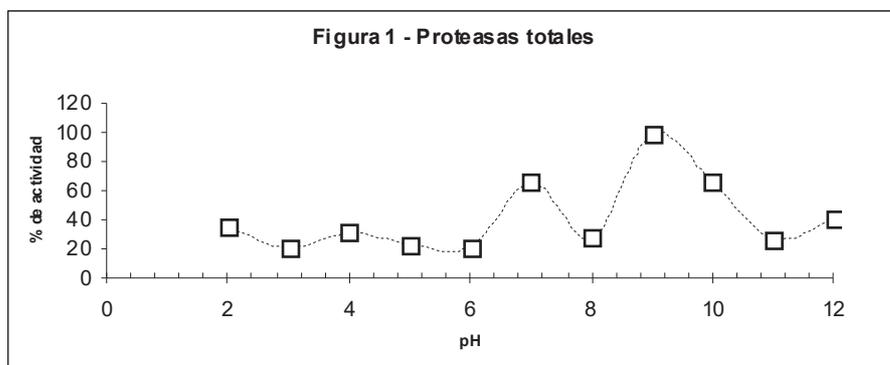
Las enzimas evaluadas fueron proteasas totales, proteasas alcalinas totales, tripsina y quimotripsina, las cuales fueron medidas en diferentes valores de pH de entre 2 y 12. Los métodos de análisis de enzimas utilizados fueron Charney y Tomarelli (1947) y Delmar *et al.* (1979) para tripsina y quimotripsina, respectivamente, y Anson (1938) para proteasas totales y alcalinas totales, pero con una modificación, el uso exclusivo del tampón universal Stauffer (1989), ya que es más estable en todo el intervalo de pH. Para la determinación de la concentración de proteína soluble se utilizó la técnica de Bradford (1976).

Los extractos obtenidos fueron centrifugados a 13200 rpm durante 30 min a 4°C. El sobrenadante, donde se encontraban las enzimas digestivas, fue recuperado. Para las proteasas totales se utilizó hemoglobina al 1% como sustrato y para proteasas alcalinas totales, azocaseína al 1%. Se emplearon BAPPNA 1 mM y SAPPNA 1,142 mM como sustratos específicos para tripsina y quimotripsina, respectivamente. Cada medición de actividad enzimática fue determinada por triplicado y referida en UI/mg de proteína.

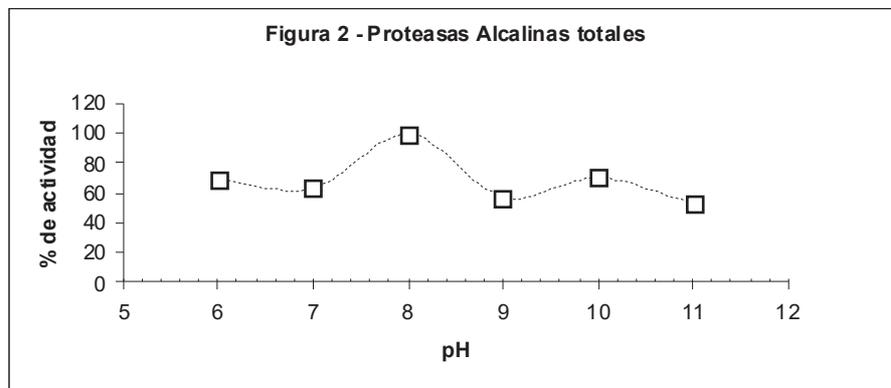
En los ensayos de digestibilidad *in vitro* se evaluó la capacidad digestiva de *O. vulgaris* sobre 10 dietas utilizando el jugo gástrico como fuente de enzimas digestivas, el pH-STAT como digestor artificial, y con las enzimas digestivas caracterizadas a un pH determinado. Se midió el grado de hidrólisis (%GH) de dietas con base de bacaladilla, *Micromesistius poutassou*, y como aglutinante, distintos porcentajes de proteína de soja (15%), gelatina natural (10, 10+colesterol +arginina y 20%) o calentada (10+col+arg y 10%); además, se probaron algunas dietas naturales normalmente utilizadas en el engorde de esta especie, como bacaladilla, el mejillón (*Mytilus edulis*), calamar (*Loligo gahi*) y calamar liofilizado.

Resultados

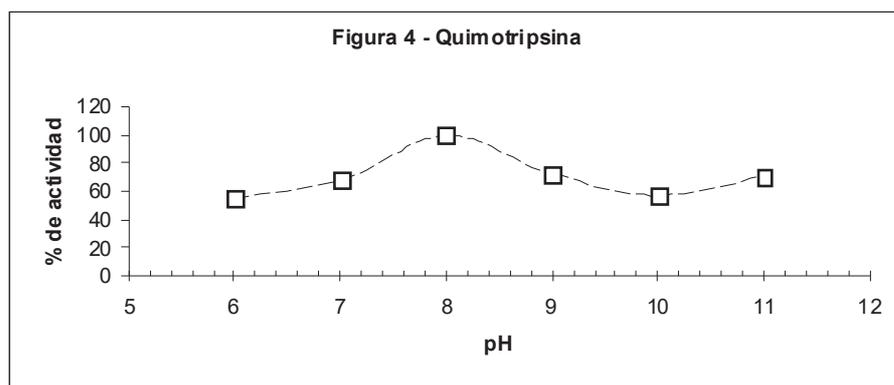
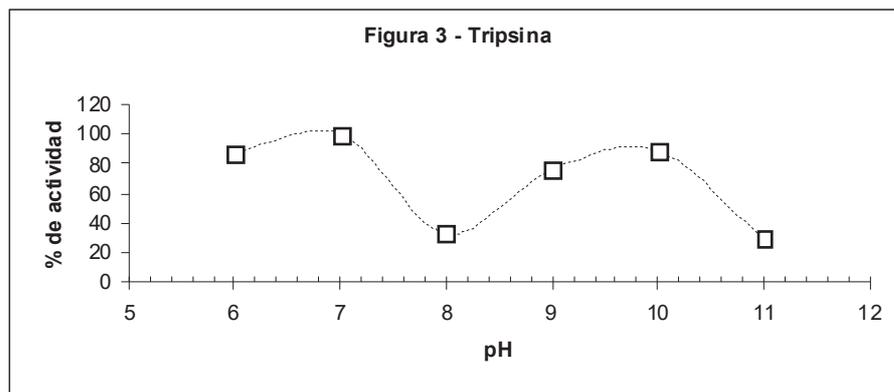
El perfil de actividad enzimática de proteasas totales en el jugo gástrico de *O. vulgaris* en el rango de pH 2 a 12, (Figura 1) indica que existen dos picos de actividad enzimática máxima, a pH 7 y 9.



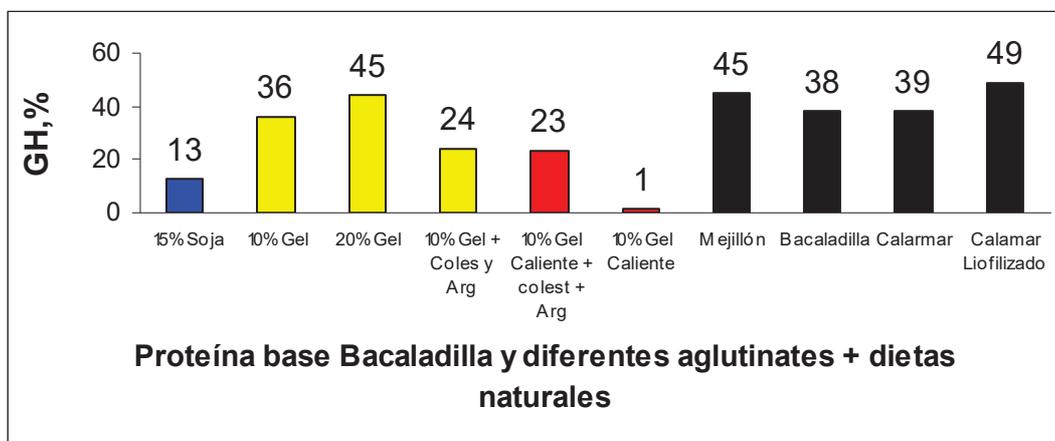
La variación de actividad enzimática de proteasas alcalinas totales en el jugo gástrico de *O. vulgaris* en el rango de pH 6 a 12 se muestra en la Figura 2. Se observa un máximo de actividad a pH 8.



El porcentaje de actividad de la tripsina (Figura 3) en el jugo gástrico de es máximo a pH 7, mientras que para quimotripsina (Figura 4), es a pH 8.



La digestibilidad *in vitro* (Grado de hidrólisis, GH %), usando jugo gástrico de pulpo como fuente de enzimas digestivas, sobre distintas dietas artificiales preparadas con base de bacaladilla y aglutinadas con proteína de soja, gelatina natural o calentada, y sobre dietas naturales como mejillón y calamar, se muestran en la Figura 5.



Discusión.

La actividad de proteasas totales y proteasas alcalinas totales es a pH 9 y 8, respectivamente, mientras que la actividad máxima de tripsina se registró en pH 7 y de quimotripsina en pH 8. Así, el paquete enzimático del jugo gástrico de pulpo tiene mayor actividad a pH alcalino, al contrario que en calamares y otros cefalópodos, como *Octopus maya*, que presentan mayor actividad en medios ácidos.

En relación a los aglutinantes, la gelatina en frío mostró ser un aglutinante adecuado. Cuando fue usada para aglutinar bacaladilla cruda, tanto al 10% como al 20%, estas dietas han obtenido digestibilidad similar a las dietas naturales como calamar, mejillón o bacaladilla. En oposición, la proteína de soja y la gelatina disuelta en agua caliente proporcionaron bajas digestibilidad, no siendo aconsejadas como aglutinantes de dietas para estas especies.

Finalmente, la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) parece ser una buena base de materia prima para la elaboración de dietas artificiales para pulpo.

Bibliografía.

- Anson, M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J. Gen. Physiol., 22, 79-89.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. An. Biochem., 72, 248-254.
- Cardenas-Lopez, J.L., Haard, N.F. 2009. Identification of a cysteine proteinase from Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) hepatopancreas as cathepsin L. Food Chemistry. 112(2): 442-447.
- Charney, J, Tomarelli, R (1947) A colorimetric method for the determination proteolytic activity of duodenal juice. Biological Chemistry, 171, 501-505.
- Delmar, E.G., Largman, C., Brodick, J.W., Geokas, M.C. 1979. A sensitive new substrate for chymotrysin. Analytical Biochemistry, 99, 316-320.

- Domingues, P., Bettencourt, V., Guerra, A. 2006. Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie Millieu*, 56, 109-120.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Muñoz, J.L., Okumura, S., Roo, J., Meeren, T. van der, Vidal, E.A.G., Villanueva, R. 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266: 1-15.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W. 2001. *Bioquímica de Harper*. Manual Moderno (15ª ed.) pp. 747-772.
- Perrin, M.A. 2004. Étude expérimentale des capacités digestives chez la seiche, *Sepia officinalis* L. (Mollusque, Céphalopode): Impact de l'alimentation, indice de condition nutritionnelle et formulatio d'un aliment artificiel. Tesis Doctoral. Université de Caen, Normandie, Francia, 145 p.
- Stauffer, C. 1989. *Enzyme Assays for Food Scientists*. Van Nostand Reinhold/AVI, New York. 552 pp.

2.2.4. Digestibilidad de una dieta artificial utilizando como aglutinante alginato y otra natural de pescado en el pulpo de roca.

IMIDA, C.A. de Murcia.

Los resultados de crecimiento obtenidos con dietas experimentales, aunque algunos han sido positivos, siempre han sido inferiores a los obtenidos con determinadas dietas naturales. Frecuentemente esto se ha atribuido a la falta de palatabilidad que implica en general una disminución de la ingesta, o también a una deficiente composición nutricional. Sin embargo, los procesos para la preparación de las dietas artificiales utilizando aglutinantes pueden también tener una influencia negativa sobre la digestibilidad de los nutrientes que contienen. En este trabajo se comparan la digestibilidad de dos dietas una formulada a base de boga y langostino mezclado y con alginato como aglutinante y otra natural de boga.

Material y métodos.

Los ejemplares de pulpo fueron capturados por una embarcación de arrastre de fondo y trasladados al laboratorio. En este se estabularon durante quince días para su adaptación a las condiciones de cautividad en 2 tanques circulares de 2000 litros que tenían tubos de PVC para servir como refugios o guaridas. Estos tanques se encuentran dentro de un sistema de recirculación, con filtros mecánicos y biológicos, UV, y bomba de calor. Durante este período la temperatura fue de $18\pm 1^{\circ}\text{C}$, el oxígeno disuelto no descendió del 80% (Cerezo Valverde y García García 2005), y se les suministro cangrejo y boga como alimento (García García y Cerezo Valverde 2006).

Después de este periodo de aclimatación se seleccionaron ejemplares con pesos corporales de 500 a 800 g y se trasladaron a los tanques donde, tras otros quince días de adaptación, se realizaría el experimento. Los tanques eran circulares de 160 litros de volumen y se estabulaba un pulpo en cada uno de los tanques. Estos también operaban en un sistema de recirculación de agua y las condiciones experimentales fueron similares a las descritas anteriormente.

En el experimento se utilizaron dos tipos de dieta: filetes de boga y una dieta experimental que estaba elaborada con alginato, disolución de calcio, boga y langostino. Para su elaboración se preparaba una pasta de alginato (65 g de Pokel Merl por cada litro de agua destilada), a la que se adicionaba boga (sin espinas ni escamas) y langostino muy bien triturados. Todo ello se mezclaba muy bien con una batidora industrial. Por último se añadía una disolución de calcio (10 g de Pokel Cals por cada 100 ml de agua destilada) que se mezcló también con la batidora industrial para endurecer la pasta. La pasta resultante se ponía en bandejas de plástico que se colocaban en una cámara frigorífica (4°C) durante 24 horas. Tras este periodo la pasta se había solidificado y se cortaba en trozos de aproximadamente 4 cm. que se almacenaban en bolsas de plástico y en una cámara congeladora (-20°C) para su posterior utilización.

Se realizó una prueba de estabilidad de la dieta artificial en agua de mar para comprobar si se disgregaba y cuantificar los cambios en peso. Se realizaron dos mediciones a las 4 y a las 24 horas de inmersión. Para ello 5 trozos de dieta de peso conocido se sumergían en 5 recipientes con

agua de mar y eran pesados a la 4 y a las 24 horas de inmersión. El factor de corrección se calculó como: $F = P_i / P_f$, donde P_i es el peso inicial de la muestra y P_f el peso final transcurridas las 4 y 24 horas de inmersión. Este factor de corrección se utilizó para calcular la ingesta diaria de alimentos, multiplicando este valor por la comida sobrante en el tanque.

Tabla 1 – Cálculo del factor de corrección después de 4 y de 24 horas de inmersión en agua de mar de la dieta artificial.

Muestra	Peso inicial	Peso (4 h en agua)	Diferencia	%	Factor
1	26,04	24,58	-1,46	-5,607	1,0594
2	27,16	25,23	-1,93	-7,106	1,0765
3	26,66	25,18	-1,48	-5,551	1,0588
4	26,43	26,08	-0,35	-1,324	1,0134
5	23,06	20,63	-2,43	-10,54	1,1178
					1,0651
Muestra	Peso inicial	Peso (24 h en agua)	Diferencia	%	Factor
1	26,04	22,81	-3,23	-12,4	1,1416
2	27,16	23,77	-3,39	-12,48	1,1426
3	26,66	23,48	-3,18	-11,93	1,1354
4	26,43	25,31	-1,12	-4,238	1,0443
5	23,06	19,9	-3,16	-13,7	1,1588
					1,1245

Se establecieron dos grupos experimentales de pulpos: a uno se alimentó con filetes de boga y estaba formado por 7 ejemplares de los cuales 3 eran machos y 4 hembras; el otro grupo estaba formado por 8 ejemplares, 3 machos y 5 hembras.

El alimento se suministraba a cada tanque a las 9 horas y 6 días a la semana, suministrando siempre una cantidad conocida y superior a la que ingerían, de tal forma que al día siguiente los restos de alimento eran retirados, secados con papel secante y pesados con el objeto de calcular la ingesta de alimento. Cada día antes de suministrar el alimento se recogían las heces mediante un pequeño salobre con una malla muy fina y era colocada en cajas de petri y guardadas en el congelador (-20°C), posteriormente eran centrifugadas, liofilizadas y almacenadas hasta su análisis.

El contenido en macronutrientes (proteína, grasa, humedad y cenizas) de ejemplares del pulpo (al inicio y al final del experimento); heces y de las dietas se determinó según los métodos de la AOAC (1997): la proteína por el método Kjeldahl utilizando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno a proteína, grasa mediante extracción con éter de petróleo usando un extractor SOXTEC System HT6, humedad por desecación a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante y minerales totales por incineración a $450 \pm 2^\circ\text{C}$. El material extraíble libre de nitrógeno (NFE) se calculó por diferencia.

Los minerales específicos se analizaron utilizando el método de espectrometría de emisión atómica (ICP) con un aparato Varian (Vista-mpx).

El contenido en cenizas insolubles en ácidos (AIA) de las heces y las dos dietas fue analizado utilizando el método descrito por Atkinson et al. (1984). Todos los análisis se realizaron por triplicado. El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) fue calculado utilizando la ecuación de Maynard y Loosli (1969): $CDA = 100 - (100 \times \%M_{dieta} / \%M_{heces}) \times (\%N_{heces} / \%N_{dieta})$, donde M es el marcador inerte (AIA) y N el nutriente.

Se calculó los valores medios y la desviación estándar de todos los parámetros medidos y las diferencias entre los valores medios fueron analizadas con el análisis de la varianza, para lo que los índices y porcentajes fueron transformados previamente en logaritmos neperianos. Para establecer grupos homogéneos se utilizó el análisis de Tukey HDS para número desigual de muestras. Se estableció un nivel de significación de $p < 0,05$.

Resultados.

Composición nutritiva del alimento.

Macronutrientes.

Los resultados de los análisis de las dos dietas empleadas se muestran en la Tabla 2. Se comprueba que para los valores de materia seca, proteína y cenizas insolubles en ácidos existen diferencias significativas, siendo en las últimas donde las diferencias de los valores medios son mayores. No existen diferencias significativas en el contenido en lípidos.

Tabla 2. Composición en macronutrientes del alimento suministrado en peso seco.

	M. Seca (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	C.I.A. ¹ (%)	M.E.L.N. ² (%)
Boga (<i>Boops boops</i>) (n=3)	30,94*	64,62 ± 0,63*	33,75 ± 2,12	4,11 ± 0,04*	0,04 ± 0,01*	n.d.
Dieta Experimental (n=3)	26,29	51,07 ± 1,17	32,05 ± 0,12	10,69 ± 1,30	0,16 ± 0,03	7,00 ± 2,07

¹ C.I.A. – Cenizas insolubles en ácido.

² M.E.L.N. – Material extraíble libre de nitrógeno.

n.d. – no significativo.

* $P < 0,05$ – Significativo

Minerales.

El contenido de minerales en las dos dietas se muestra en la Tabla 3. No existen diferencias significativas en los contenidos en magnesio, fósforo y zinc. Los contenidos de boro, calcio, hierro, manganeso y sodio son significativamente diferentes, siendo mayores los valores en la dieta experimental. Sin embargo para los otros dos minerales, cobre y potasio, la situación es inversa encontrándose en mayor cantidad en la boga.

Tabla 3. Composición nutricional de los minerales en el alimento expresados en peso seco (mg/kg).

		Boga (<i>Boops Boops</i>)	Dieta experimental	ANOVA
B	Media \pm SD	0,64 \pm 0,21	1,23 \pm 0,24	*
	Min – Max	0,57 – 0,87	1,03 – 1,50	
Ca	Media \pm SD	1159,60 \pm 54,48	9511,63 \pm 1175,47	*
	Min – Max	1127,08 – 1222,49	8502,13 – 10802,13	
Cu	Media \pm SD	9,32 \pm 1,51	6,26 \pm 0,76	*
	Min – Max	8,23 – 11,05	5,42 – 6,91	
Fe	Media \pm SD	16,61 \pm 0,90	41,72 \pm 4,35	*
	Min – Max	15,62 – 17,40	37,60 – 46,27	
K	Media \pm SD	11995,66 \pm 355,61	8506,43 \pm 1219,70	*
	Min – Max	11659,89 – 12368,24	7294,49 – 9733,72	
Mg	Media \pm SD	1454,76 \pm 41,10	1297,20 \pm 168,46	n.s.
	Min – Max	1407,64 – 1483,18	1156,09 – 1483,71	
Mn	Media \pm SD	0,04 \pm 0,00	0,16 \pm 0,01	*
	Min – Max	0,04 – 0,05	0,15 – 0,17	
Na	Media \pm SD	4205,8 \pm 111,27	12078,13 \pm 1717,62	*
	Min – Max	4097,06 – 4319,33	10531,54 – 13926,72	
P	Media \pm SD	7912,06 \pm 219,63	7380,22 \pm 882,38	n.s.
	Min – Max	7660,48 – 8065,54	6586,91 – 8330,57	
Zn	Media \pm SD	26,50 \pm 0,22	19,73 \pm 4,28	n.s.
	Min – Max	26,27 – 26,70	16,92 – 24,66	

B: Boro; Ca: Calcio; Cu: Cobre; Fe: Hierro; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeseo; Na: Sodio; P: Fósforo; Zn: Zinc; n.s.: no significativo; $p > 0,05$; $*p < 0,05$ - Significativo

Composición de los pulpos.

Macronutrientes.

Tabla 4. Composición en macronutrientes de los ejemplares de pulpo. CT: composición de todo el cuerpo; EGD: excluyendo la glándula digestiva; GD: glándula digestiva.

	Humedad (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	M.E.L.N. ¹
CT					
Controle inicial (n=3)	79,65 \pm 0,53	16,98 \pm 0,22	0,30 \pm 0,08 ^{ab}	2,39 \pm 0,13	1,12 \pm 0,40
Boga (Boops boops) (n=6)	80,03 \pm 0,76	15,61 \pm 0,54	0,57 \pm 0,17 ^a	2,29 \pm 0,12	1,72 \pm 0,60
Dieta experimental (n=7)	80,35 \pm 0,98	15,69 \pm 0,88	0,27 \pm 0,10 ^b	2,27 \pm 0,06	1,39 \pm 0,65
ANOVA	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.

EGD					
Controle Inicial (n=3)	79,92 ± 0,49	16,98 ± 0,17	0,20 ± 0,09	2,40 ± 0,13	0,95 ± 0,47
Boga (<i>Boops boops</i>) (n=6)	80,78 ± 0,80	15,53 ± 0,55	0,24 ± 0,12	2,33 ± 0,12	1,36 ± 0,48
Dieta experimental (n=7)	80,60 ± 0,96	15,70 ± 0,98	0,14 ± 0,07	2,28 ± 0,07	1,28 ± 0,71
ANOVA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
GD					
Controle Inicial (n=3)	71,08 ± 1,57 ^{ab}	16,97 ± 2,62	3,34 ± 0,66	2,16 ± 0,16 ^b	6,65 ± 3,85
Boga (<i>Boops boops</i>) (n=6)	63,68 ± 3,96 ^a	17,27 ± 2,13	7,46 ± 5,23	1,57 ± 0,21 ^a	10,02 ± 4,48
Dieta experimental (n=7)	70,73 ± 4,41 ^b	17,19 ± 1,79	5,36 ± 3,65	2,07 ± 0,22 ^b	5,44 ± 1,73
ANOVA	*	n.s.	n.s.	*	n.s.

¹ M.E.L.N. – Material extraíble libre de nitrógeno; n.s.: no significativo; *Significativo: p<0,05.

Tabla 5. Composición en minerales de los ejemplares completos de pulpo en peso húmedo (mg/kg).

		Control inicial	Boga	Dieta experimental	ANOVA
B	Media ± SD	3,67 ± 0,73	2,01 ± 1,52	2,45 ± 1,18	n.s.
	Min-Max	2,91 – 4,37	0,85 - 4,06	0,88 - 3,48	
Ca	Media ± SD	610,60 ± 185,22 ^b	177,46 ± 32,76 ^a	202,31 ± 44,67 ^a	*
	Min-Max	477,26 - 822,01	143,65 - 224,32	142,96 - 251,29	
Cu	Media ± SD	20,15 ± 1,62 ^b	6,48 ± 2,74 ^a	23,08 ± 4,54 ^b	*
	Min-Max	18,84 - 21,96	2,74 - 9,94	18,76 - 28,04	
Fe	Media ± SD	34,95 ± 6,89 ^b	2,45 ± 0,86 ^a	4,50 ± 1,23 ^a	*
	Min-Max	27,21 - 40,39	3,36 - 1,58	3,69 - 6,32	
K	Media ± SD	2623,78 ± 86,43 ^b	2093,46 ± 82,23 ^a	2208,93 ± 234,76 ^a	*
	Min-Max	2533,29 - 2705,47	1973,65 - 2188,47	2007,02 - 2520,94	
Mg	Media ± SD	1238,50 ± 59,88 ^b	956,56 ± 58,68 ^a	1084,96 ± 151,98 ^{ab}	*
	Min-Max	1175,26 - 1294,33	875,79 - 1033,74	881,98 - 1243,12	
Mn	Media ± SD	0,04 ± 0,02	N.d.	N.d.	n.s.
	Min-Max	0,03 – 0,06			
Na	Media ± SD	8498,49 ± 246,63	7440,33 ± 449,11	8088,95 ± 979,04	n.s.
	Min-Max	8270,90 - 8760,53	6963,65 - 8247,10	6743,53 - 9024,93	
P	Media ± SD	1760,15 ± 44,79 ^b	1355,12 ± 72,04 ^a	1445,52 ± 151,58 ^a	*
	Min-Max	1728,17 - 1811,34	1280,59 - 1456,09	1311,07 - 1625,69	
Zn	Media ± SD	29,79 ± 5,24 ^a	30,22 ± 7,72 ^a	45,48 ± 4,67 ^b	*
	Min-Max	24,19 - 34,57	20,34 - 43,35	41,33 - 51,60	

B: Boro; Ca: Calcio; Cu: Cobre; Fe: Hierro; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeseo; Na: Sodio; P: Fósforo; Zn: Zinc; n.s.: no significativo; p>0,05; *p<0,05 - Significativo.

Tabla 6. Composición en minerales de los ejemplares completos, excluida la glándula digestiva, de pulpo en peso húmedo (mg/kg).

		Controle inicial	Boga	Dieta experimental	ANOVA
B	Media \pm SD	3,75 \pm 0,76	2,04 \pm 1,58	2,49 \pm 1,12	N.s.
	Min - Max	2,96 - 4,48	0,83 - 4,15	0,87 - 3,76	
Ca	Media \pm SD	623,03 \pm 188,22 ^b	180,25 \pm 34,25 ^a	206,61 \pm 36,30 ^a	*
	Min - Max	487,27 - 8379	145,09 - 230,26	142,03 - 245,82	
Cu	Media \pm SD	11,6 \pm 3,50 ^b	5,32 \pm 2,46 ^a	8,62 \pm 3,49 ^{ab}	*
	Min - Max	9,3 - 15,63	2,48 - 8,56	4,68 - 14,78	
Fe	Media \pm SD	23,26 \pm 8,41 ^b	1,83 \pm 0,95 ^a	4,14 \pm 2,50 ^a	*
	Min - Max	13,79 - 29,84	0,82 - 2,81	0,98 - 7,56	
K	Media \pm SD	2627,86 \pm 81,50 ^b	2079,74 \pm 88,31 ^a	2048,43 \pm 244,20 ^a	*
	Min - Max	2542,87 - 2705,36	1943,11 - 2192,98	1733,69 - 2502,72	
Mg	Media \pm SD	1249,63 \pm 59,76 ^b	974,96 \pm 65,51 ^a	1110,03 \pm 140,50 ^{ab}	*
	Min - Max	1187,14 - 1306,23	879,49 - 1060,41	884,72 - 1295,94	
Mn	Media \pm SD	0,04 \pm 0,02	N.d.	N.d.	N.c.
	Min - Max	0,02 - 0,05			
Na	Media \pm SD	8591,30 \pm 254,34	7606,23 \pm 495,41	8471,36 \pm 967,64	N.s.
	Min - Max	8360,76 - 8864,14	7063,54 - 8509,44	6821,49 - 9885,87	
P	Media \pm SD	1731,56 \pm 39,86 ^b	1325,78 \pm 70,72 ^a	1353,61 \pm 181,52 ^a	*
	Min - Max	1700,05 - 1776,36	1254,67 - 1431,99	1103,23 - 1596,14	
Zn	Media \pm SD	23,54 \pm 6,34	18,12 \pm 1,98	19,92 \pm 4,28	N.s.
	Min - Max	16,48 - 28,75	15,68 - 21,07	14,75 - 28,18	

B: Boro; Ca: Calcio; Cu: Cobre; Fe: Hierro; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeseo; Na: Sodio; P: Fósforo; Zn: Zinc; n.s.: no significativo; p>0,05; *p<0,05 - Significativo

Tabla 7. Composición en minerales de la glándula digestiva de los ejemplares de pulpo en peso húmedo (mg/kg).

		Controle inicial	Boga	Dieta experimental	ANOVA
B	Media ± SD	1,31 ± 0,07	1,47 ± 0,12	1,54 ± 1,21	N.s.
	Min - Max	1,24 – 138	1,3 - 1,64	0,63 - 3,32	
Ca	Media ± SD	212,81 ± 76,68	119,40 ± 25,98	243,17 ± 125,70	N.s.
	Min - Max	142,43 – 299,32	83,9 - 160,98	154,98 - 428,36	
Cu	Media ± SD	292,73 ± 67,91 ^b	35,05 ± 20,85 ^a	501,72 ± 198,58 ^b	*
	Min - Max	231,22 – 365,6	7,38 - 58,76	277,92 - 755,21	
Fe	Media ± SD	408,89 ± 59,76 ^b	16,75 ± 2,85 ^a	46,39 ± 10,48 ^a	*
	Min - Max	361,62 – 476,07	13,77 - 21,49	31,32 - 53,6	
K	Media ± SD	2488,5 ± 250,01 ^a	2437,73 ± 335,47 ^a	3429,43 ± 390,15 ^b	*
	Min - Max	2216,78 - 2708,8	2005,28 - 2796,01	3110,64 - 3987,17	
Mg	Media ± SD	881,17 ± 94,72 ^{ab}	566,29 ± 162,66 ^a	935,89 ± 202,04 ^b	*
	Min - Max	778,03 – 964,27	372,11 - 775,97	781,31 - 1224,33	
Mn	Media ± SD	0,28 ± 0,04 ^c	0,03 ± 0,02 ^a	0,10 ± 0,01 ^b	*
	Min - Max	0,24 – 031	0,01 - 0,06	0,09 - 0,11	
Na	Media ± SD	5550,24 ± 249,64 ^b	3825,10 ± 563,63 ^a	4512,14 ± 449,76 ^{ab}	*
	Min - Max	5265,19 - 5729,92	3028,71 - 4511,24	3875,8 - 4862,41	
P	Media ± SD	2664,78 ± 171,74 ^b	2051,70 ± 313,85 ^a	2740,12 ± 161,73 ^b	*
	Min - Max	2491,08 - 2834,49	1678,66 - 2607,07	2581,88 - 2931,83	
Zn	Media ± SD	227,51 ± 23,04 ^a	315,14 ± 186,34 ^a	892,08 ± 228,26 ^b	*
	Min - Max	203,63 – 249,61	99,35 - 637,26	739,35 - 1222,75	

B: Boro; Ca: Calcio; Cu: Cobre; Fe: Hierro; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeseo; Na: Sodio; P: Fósforo; Zn: Zinc; n.s.: no significativo; p>0,05; *p<0,05 - Significativo

Tabla 8. Composición en macronutrientes de las heces expresada en peso seco.

	S.Seca (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	C.I.A. ¹ (%)	M.E.L.N. ² (%)
Boga (<i>Boops boops</i>) (n=5)	26,98*	11,12 ± 2,01	71,85 ± 4,81*	12,67 ± 1,91*	0,17 ± 0,07*	4,36 ± 2,98*
Dieta experimental (n=3)	18,08	11,23 ± 1,73	53,08 ± 6,34	20,24 ± 4,32	0,35 ± 0,03	15,44 ± 0,37

¹ C.I.A. – Cinizas insolubles en ácido.

² M.E.L.N. – Material extraíble de nitrógeno.

*P<0,05 – Significativo

Tabla 9. Composición en minerales de las heces en peso seco.

		Boga (<i>Boops Boops</i>)	Dieta experimental	ANOVA
B	Media \pm SD	12,68 \pm 3,94	20,59 \pm 5,27	N.s.
	Min - Max	7,9 - 17,9	16,11 - 26,4	
Ca	Media \pm SD	10490,09 \pm 1656,96	13759,11 \pm 126,78*	*
	Min - Max	8632,67 - 12335,64	13667,05 - 13903,72	
Cu	Media \pm SD	22,61 \pm 7,38	37,92 \pm 5,52*	*
	Min - Max	15,84 - 31,68	32,24 - 43,26	
Fe	Media \pm SD	34,99 \pm 10,33	156,6 \pm 45,45*	*
	Min - Max	19,33 - 47,41	107,07 - 196,38	
K	Media \pm SD	1807,03 \pm 423,94	2506,38 \pm 566,95	N.s.
	Min - Max	1360,33 - 2360,27	2069,49 - 3147,05	
Mg	Media \pm SD	5871,16 \pm 1113,26	7277,75 \pm 1475,07	N.s.
	Min - Max	4530,78 - 7282,02	6234,4 - 8965,36	
Mn	Media \pm SD	0,13 \pm 0,03	0,19 \pm 0,07	N.s.
	Min - Max	0,10 - 0,15	0,13 - 0,26	
Na	Media \pm SD	27411,63 \pm 5335,81	47524,25 \pm 14929,55*	*
	Min - Max	21377,89 - 34536,92	36971,33 - 64606,14	
P	Media \pm SD	2113,62 \pm 857,60	957,14 \pm 32,32	N.s.
	Min-Max	1348,73 - 3185,66	932,84 - 993,82	
Zn	Media \pm SD	118,44 \pm 23,15	115,14 \pm 18,71	N.s.
	Min-Max	92,41 - 149,94	93,55 - 126,63	

B: Boro; Ca: Calcio; Cu: Cobre; Fe: Hierro; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeseo; Na: Sodio; P: Fósforo; Zn: Zinc; n.s.: no significativo; $p > 0,05$; * $p < 0,05$ - Significativo

Digestibilidad.

En la Tabla 9 se muestran los resultados de los coeficientes de digestibilidad aparente de las dietas utilizadas, donde se puede comprobar que para la materia seca, proteína y lípidos existen diferencias significativas entre las dos dietas, siendo el grupo de los pulpos alimentados con boga donde se obtienen los valores más altos. En relación a los coeficientes de digestibilidad aparente de los minerales las diferencias existentes no son significativas.

Tabla 9. Coeficiente de digestibilidad aparente de las dietas.

		CDA - MS	CDA - P	CDA - L	CDA - M
Boga (<i>Boops boops</i>) (N=5)	Media \pm SD	72,51 \pm 11,63*	95,59 \pm 1,05*	51,05 \pm 18,24*	27,42 \pm 16,99
	Min - Max	55,87 - 85,38	94,33 - 97,19	32,87 - 69,36	11,45 - 48,43
Pienso (N=3)	Media \pm SD	52,63 \pm 3,55	89,66 \pm 0,76	21,08 \pm 14,86	18,04 \pm 0,38
	Min - Max	49,97 - 56,66	88,81 - 90,28	10,75 - 38,11	17,77 - 18,31

CDA-MS: Coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca; CDA-P: Coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína; CDA-L: Coeficiente de digestibilidad aparente de los lípidos; CDA-M: Coeficiente de digestibilidad aparente de los minerales; CDA-MELN: Coeficiente de digestibilidad aparente del material extraíble libre de nitrógeno; N.C: no calculable; *Significativo $P > 0,05$.

En la Tabla 10 se representa los resultados relativos a la digestibilidad de los minerales. Como se puede observar sólo el calcio, el cobre, el potasio y el manganeso son los minerales que presentan diferencias significativas entre las dos dietas.

Tabla 10. Coeficientes de digestibilidad de los minerales.

		Boga (<i>Boops boops</i>) (N=5)	Dieta experimental (N=3)
CDA - B	Media \pm SD	≤ 0	≤ 0
	Min - Max	≤ 0	≤ 0
CDA - Ca	Media \pm SD	$\leq 0^*$	56,86 \pm 0,40
	Min - Max	≤ 0	56,41 - 57,15
CDA - Cu	Media \pm SD	42,92 \pm 27,40*	≤ 0
	Min - Max	7,36 - 73,91	≤ 0
CDA - Fe	Media \pm SD	37,21 \pm 18,55	≤ 0
	Min - Max	14,90 - 65,31	≤ 0
CDA - K	Media \pm SD	95,51 \pm 1,05*	91,21 \pm 1,99
	Min - Max	94,13 - 96,62	88,97 - 92,75
CDA - Mg	Media \pm SD	≤ 0	≤ 0
	Min - Max	≤ 0	≤ 0
CDA - Mn	Media \pm SD	26,60 \pm 1,63*	64,20 \pm 12,71
	Min - Max	25,44 - 27,75	50,08 - 74,74
CDA - Na	Media \pm SD	≤ 0	≤ 0

	Min - Max	≤ 0	≤ 8,73
CDA - P	Media ± SD	92,03 ± 3,23	96,13 ± 0,13
	Min - Max	87,99 – 94,92	95,98 – 96,23
CDA - Zn	Media ± SD	≤ 0	≤ 0
	Min - Max	≤ 0	≤ 0

CDA: Coeficiente de digestibilidad aparente; B: Boro; Ca: Calcio; Cu: Cobre; Fe: Hierro; K: Potasio; Mg: Magnesio; Mn: Manganeso; Na: Sodio; P: Fósforo; Zn: Zinc; n.s.: no significativo; p>0,05; *p<0,05 - Significativo.

El CDA-CA para el grupo de boga es inferior a cero mientras que para el grupo alimentado con boga es de 56,86%. Para Cu el suceso es inverso, es decir, que el CDA es inferior a cero para el grupo alimentado con la dieta experimental mientras que para el grupo alimentado con boga el valor es de 42,92%. Para el potasio se verifica una ligera diferencia significativa entre los dos grupos, no obstante, la digestibilidad para este mineral se puede considerar bastante alta en relación a otros minerales. Para el manganeso las diferencias son también significativas siendo el CDA mayor para la dieta artificial. En el caso del Zn los CDA de las dos dietas son próximos a cero.

Discusión.

Tanto la dieta natural como la artificial fueron bien aceptadas por los ejemplares de pulpo. La textura y firmeza de la dieta experimental fue óptima; los pulpos fueron capaces de manipularla con facilidad e ingerirla sin que esta se disgregará como se ha verificado en otros trabajos realizados con dietas formuladas húmedas (Cerezo Valverde et al., 2008; Quintana et al., 2008; Rosas et al., 2008).

El coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca obtenido con boga es inferior a los valores obtenidos con este mismo alimento por Hernández et al. (2004) y Mazón et al. (2007), que fueron de 52,6% y 98,4 respectivamente. Entre las dietas aquí utilizadas el valor más bajo se obtuvo con la dieta artificial, lo que indica que el aprovechamiento de los nutrientes es más bajo.

Los coeficientes de digestibilidad de proteína obtenidos por otros autores (Hernández et al., 2004; Mazón et al., 2007; Sánchez et al., 2009) son similares a los obtenidos en este trabajo tanto para la dieta natural como para la experimental. En general se observa que la digestibilidad de la proteína es alta, oscilando entre un 90 y 99% en todos los casos. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la principal fuente de energía de *O. vulgaris* es la proteína tal como sugieren otros autores (Lee, 1994). No obstante, la digestibilidad de la proteína de la dieta natural en este trabajo fue superior a la de la dieta artificial.

El coeficiente de digestibilidad de los lípidos obtenido aquí es inferior a los obtenidos por Hernández et al. (2004), Mazón et al. (2007) y Sánchez et al. (2009). La boga utilizada para este trabajo era procedente de las jaulas de engorde de dorada y en la de esos autores era boga salvaje que tiene un menor contenido en lípidos. Tal como indica Sánchez et al. (2009) existe una correlación negativa entre el nivel de lípidos del alimento y el coeficiente de digestibilidad de este.

En este trabajo aunque las dos dietas tenían un mismo contenido en lípidos el coeficiente de digestibilidad más bajo se obtuvo con la dieta artificial. Cabe pensar que este valor más bajo sea debido al alginato de la dieta artificial. También los valores más bajos de los coeficientes de

digestibilidad de la proteína y de la materia seca podrían ser debidos al aglomerante de la dieta artificial.

Conclusiones.

-Los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca, proteínas y lípidos fueron más bajos que los obtenidos por la dieta natural, por lo que cabría pensar que el aglomerante dificulta la absorción de los nutrientes en el pulpo.

-Todos los coeficientes de digestibilidad de los minerales bivalente (Cu, Fe, Mg y Zn), con excepción del calcio fueron menores en la dieta experimental, por lo que también cabría pensar que la adición de calcio en elevadas concentraciones en las dietas experimentales interfieren con la absorción de estos minerales.

Bibliografía.

- Castro, B.G., DiMarco, F.P., DeRusha, R.H., Lee., P.G., 1993. The effect of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth, and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 170, 241-252.
- Central Analítica, (s/d) Espectrometría de Emisión Atómica (ICP-AES) - <http://ca.iq.usp.br/conteudo2.php?itemid=31&alt=ICP-AES&c=&paaid=16> (Consultado em 20 – 09 – 2009)
- Cerezo Valverde J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F. and García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. Aquaculture 275: 266–273
- Cerezo, Valverde, J., Aguado Giménez, F., Hernández, M.D., García García, B. 2009. Growth and efficiency of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on moist diets formulated with different levels of lipid and glutamate supplementation. Apresentado ao “Cephalopod International Advisory Council CIAC’09 Symposium”, Vigo, Espanha, 2009.
- DeRusha, R.H., Forsythe, J.W., DiMarco, F.P., Hanlon, R.T. 1989. Alternative diets for maintaining and rearing cephalopods in captivity. Laboratory Animal Science 39. pp 239 – 254.
- Domínguez, P. M., López, N., Muñoz, J. A., Maldonado, T., Gaxiola, G., & Rosas, C. 2007. Effects of a dry pelleted diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. Aquacult. Nut. 13, 273-280.
- García-García, B., Aguado-Giménez, F., (2002). Influence of diet on on-growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). Aquaculture 211:171-182.
- Hernández, M. D., García García, B. 2004. Digestibility of natural foods in common Octopus (*Octopus vulgaris*). Biotechnologies for Quality. Aquaculture Europe, Barcelona 20 – 23 October, pp 412-413.
- Lee, P. G., (1994), Nutrition of Cephalopods: Fueling the system. En: Physiology of Cephalopods Molluscs, Lifestyle and Performance Adaptation. Pörtener, H. O.; O’Dor, R. K., and Macmillan, D. L., (Eds.), Gordon and Breach Publishers, Basel, Switzerland, pp 35-51.

- Lee, P.G., 1992. Chemotaxis by *Octopus maya* Voss et solis in a Y-maze. J. Exp. Mar. Biol. Escol. 153, pp 53 – 67.
- Mazón, M.J., Piedecausa, M.A., Hernández, M.D., García García, B. 2007. Evaluation of environmental nitrogen and phosphorus contributions as a result of intensive ongrowing of common octopus (*Octopus vulgaris*). Aquaculture 266, 226 – 235.
- Navarro, J.C., Villanueva, R. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. Aquaculture 219, pp 613 – 631.
- O'Dor, R. K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M. J., Wells, J. 1984. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus Vulagris*. Marine Behaviour and Physiology 11, pp 239-258.
- Rosas, C., Cuzon, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Chay, D., López, N., Maldonado, T., & Domínguez, P. M. 2007. Energy balance of *Octopus maya* fed crab or an artificial diet. Mar.Biol. 152, 371-381.
- Villanueva, R., Bustamante, P. 2006. Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. Aquaculture 261: 225 – 240

2.2.5. Efecto del contenido en lípidos de dietas naturales sobre la digestibilidad de proteína y lípidos en el pulpo común.

IMIDA, C.A. de Murcia.

Introducción.

Los resultados de crecimiento y de conversión del alimento obtenidos en el pulpo común alimentados con dietas naturales varían ampliamente. Varios factores pueden explicar las diferencias encontradas, siendo el contenido de lípidos de la dieta uno de ellos. Ensayos previos han mostrado que alimentando al pulpo sólo con peces se obtienen resultados de crecimiento más bajos que con cangrejo (Aguado Giménez y García García, 2002) y alimentado sólo con peces, boga o sardina, el alimento que contenía menos lípidos (boga) ofrecía los mejores resultados de crecimiento y de conversión del alimento (García García y Aguado Giménez, 2002).

En el presente trabajo se estudia el efecto del contenido en lípidos y la tasa absoluta de ingestión de lípidos de tres dietas naturales (cangrejo, *Carcinus mediterraneus*; sardina, *Sardina pilchardus*; y bogua, *Boops boops*) sobre el coeficiente aparente de digestibilidad de proteína y de lípidos, mediante la técnica de las cenizas insolubles en ácidos.

Material y métodos.

16 pulpos machos fueron distribuidos individualmente en 16 tanques cilindricos de 216 litros, que formaban parte de un sistema de recirculación provisto con filtro mecánico, filtro biológico, lámpara de luz ultravioletas y bomba de calor. Los parámetros del agua fueron: salinity: 37 g/l; NO₂- >0.1 mg l⁻¹; NO₃- <0.1 mg l⁻¹; NH₃ < 0.5 mg l⁻¹; pH 7.7; temperature: 19°C; O₂ >80%.

El alimento que se mantenía congelado, fue suministrado cada mañana a saciedad asegurando que la cantidad aportada al tanque fuera superior a la ingerida por cada pulpo. La boga y la sardina se suministraban sin cabeza ni cola y el cangrejo sin patas. El alimento sobrante se retiraba del tanque el día siguiente, era secado con papel absorbente y pesado en una balanza digital. Cada mañana se recolectaban las heces que eran almacenadas en un congelador a -80°C hasta su análisis. Para obtener una cantidad suficiente para la analítica las heces de 2 a 3 ejemplares alimentados con el mismo alimento se juntaban. El análisis de la composición en macronutrientes de las tres dietas (tabla 1) así como de las heces de los pulpos (tabla 2) se realizó mediante los procedimientos de la AOAC (1997).

Tabla 1. Composición en macronutrientes de cada alimento (% en material seca de la porción comestible).

	Crab	Sardine	Bogue	ANOVA
Materia seca	11.69±0.06 ^a	22.41±0.02 ^b	21.67±1.42 ^b	P<0.01
Proteína (PC)	62.58±0.70 ^a	73.98±0.24 ^b	70.79±0.48 ^c	P<0.001
Lípidos (LC)	13.09±0.42 ^a	20.98±0.19 ^b	20.29±0.10 ^b	P<0.001
Cenizas	18.02±0.30 ^a	7.46±0.04 ^b	6.30±0.04 ^c	P<0.001
AIA	0.33±0.09	0.19±0.04	0.21±0.02	ns

Los datos se expresan como la media±DS. AIA: Cenizas insolubles en ácido.

El contenido en cenizas insolubles en ácidos de las heces y de la porción comestible del alimento (tabla 1 y 2) se hizo utilizando el método descrito por Atkinson et al. (1984). Todos los análisis se realizaron por triplicado. Los coeficientes de digestibilidad aparente (ADC) se calcularon utilizando la ecuación de Maynard y Loosli (1969):

$$ADC = 100 - (100 \times \%M_{dieta} / \%M_{heces}) \times (\%N_{heces} / \%N_{dieta})$$

Donde M es el marcador inerte (AIA) y N el nutriente.

Tabla 2. Composición en macronutrientes de las heces (% en material seca).

	Crab	Sardine	Bogue	ANOVA
Protein	25.08±0.67	23.67±1.08	30.76±5.44	ns
Lipid	6.54±0.31 ^a	27.40±4.34 ^b	17.63±3.06 ^c	P<0.01
Ash	51.22±1.07 ^a	28.67±1.69 ^b	34.75±3.18 ^b	P<0.001
AIA	3.19±0.30 ^a	0.85±0.12 ^b	0.94±0.18 ^b	P<0.001

Los datos se expresan como la media±DS. AIA: Cenizas insolubles en ácido.

Resultados y discusión.

The ADCP varied significantly (ANOVA P<0.05) as a function of the feed (Crab: 95.8±0.5; Sardine: 92.7±0.7; Bogue: 90.3±1.7) and was negatively correlated with the lipid content of the same (r = -0.86), decreasing as the lipid content increased, and the absolute lipid feeding rate (r = -0.98). The ADCL also varied significantly (ANOVA P<0.05) as a function of the feed and was also significantly correlated with the lipid content (r=- 0.94), but not with the absolute lipid feeding rate (r=-0.46).

El coeficiente aparente de digestibilidad de las proteínas (ADCP) varió significativamente (ANOVA P<0.05, tabla 3) en función del tipo de alimento (cangrejo: 95.8±0.5; sardina: 92.7±0.7; boga: 90.3±1.7), y se correlacionó negativamente con el contenido en lípidos de la dieta (r=-0.98) disminuyendo según el contenido lípidos incrementa, y con la tasa de ingesta de lípidos (r=-0.98). El coeficiente aparente de digestibilidad de lípidos (ADCL) también varió significativamente (ANOVA P<0.05; tabla 3) como una función del alimento (cangrejo: 94.7±0.8; sardina: 69.8±8.1; boga: 80.0±7.2), y también se correlaciona negativamente con el contenido en lípidos (r=-0.94), pero no con la tasa de ingestión de lípidos (r=-0.46).

Table 3. Coeficientes de digestibilidad aparente (ADC).

	Cangrejo	Sarduba	Bogua	ANOVA
Peso (g)	1106±13	1123±211	1123±102	ns
AFR (g day ⁻¹)	43.42±0.77 ^a	17.64±3.54 ^b	24.22±3.64 ^b	P<0.001
APFR (g day ⁻¹)	3.23±0.06	2.97±0.60	3.77±0.57	ns
ALFR (g day ⁻¹)	0.67±0.01	0.82±0.17	1.08±0.16	ns
ADCP (%)	95.78±0.51 ^a	92.73±0.66 ^{ab}	90.32±1.71 ^b	P<0.05
ADCL (%)	94.73±0.75 ^a	69.84±8.12 ^b	80.00±7.24 ^{ab}	P<0.05

Los datos se expresan como la media± D.S.

ADC: Coeficiente de digestibilidad aparente. P: Proteína. L: Lípidos.

AFR: Tasa absoluta de alimentación; APFR: Tasa absoluta de ingestión de proteínas; ALFR: Tasa absoluta de ingestión de lípidos.

La digestibilidad de los lípidos en cefalópodos es baja (tabla 4), probablemente debido a la baja capacidad de emulsión en su tracto digestivo (O'Dor et al., 1981) y su baja capacidad para catabolizar los lípidos (Ballantyne et al., 1981). De hecho los pulpos alimentados con sardina con un alto contenido en lípidos producen heces grasas y flotantes (García García y Aguado Giménez, 2002). Los requerimientos de lípidos de los cefalopodos son bajos pero, sin embargo, son importantes para garantizar el alto crecimiento. Su utilización está probablemente restringida a la estructura celular, colesterol y hormonas esteroides (Lee, 1994). El pulpo es un carnívoro estricto que tiene capacidad para digerir y utilizar la proteína rápidamente, lo que junto con la menor digestibilidad de los lípidos muestra que la proteína es la principal fuente de energía.

Tabla 4. Coeficientes de digestibilidad aparente en cefalópodos.

Specie	ADCL	ADCP	Referencias
O. vulgaris	46	96	O'Dor et al. (1984)
S. Officinales	44-74	81-92	Lee (1994)

ADC: Coeficiente de digestibilidad aparente. P: Proteína. L: Lípidos.

Es importante destacar que los datos muestran que no sólo la digestibilidad de los lípidos es menor sino que su contenido en la dieta puede afectar de forma general a la digestibilidad de la dietas. En las Figuras 1 y 2 se muestra la relación entre el contenido en lípidos de la dieta (LC) y ADCP y ADCL, a partir de los datos obtenidos en este trabajo y los obtenidos en otros trabajos en los que se utiliza una metodología similar (Hernández and García García 2004; Mazón et al.; 2007). ADCP, independientemente del tipo de alimento, disminuye curvilíneamente según aumenta el contenido en lípidos de la dieta, desde valores del 98-99% a valores del 90-92%. ADCL, sin embargo, tiende a mantenerse constante en torno al 96%, hasta valores de LC del 13%. Después disminuye hasta alcanzar el 70% de ADCL para LC del 20%.

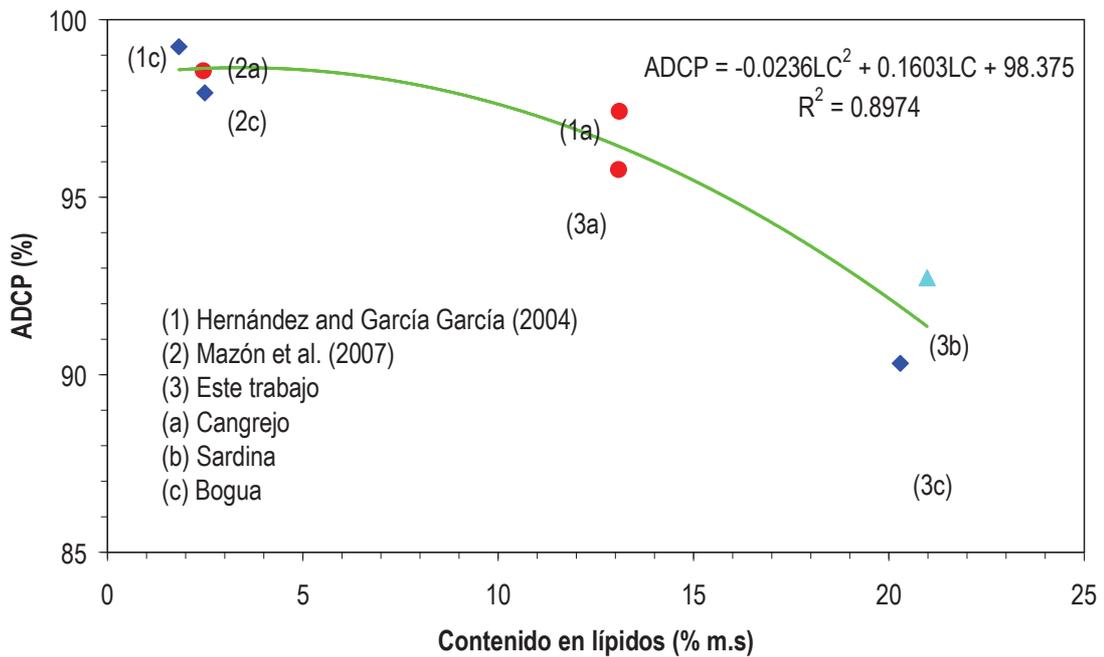


Figura 1. Relación entre el contenido en lípidos de la dieta (% en materia seca) y el coeficiente de digestibilidad aparente de proteína en tres dietas naturales.

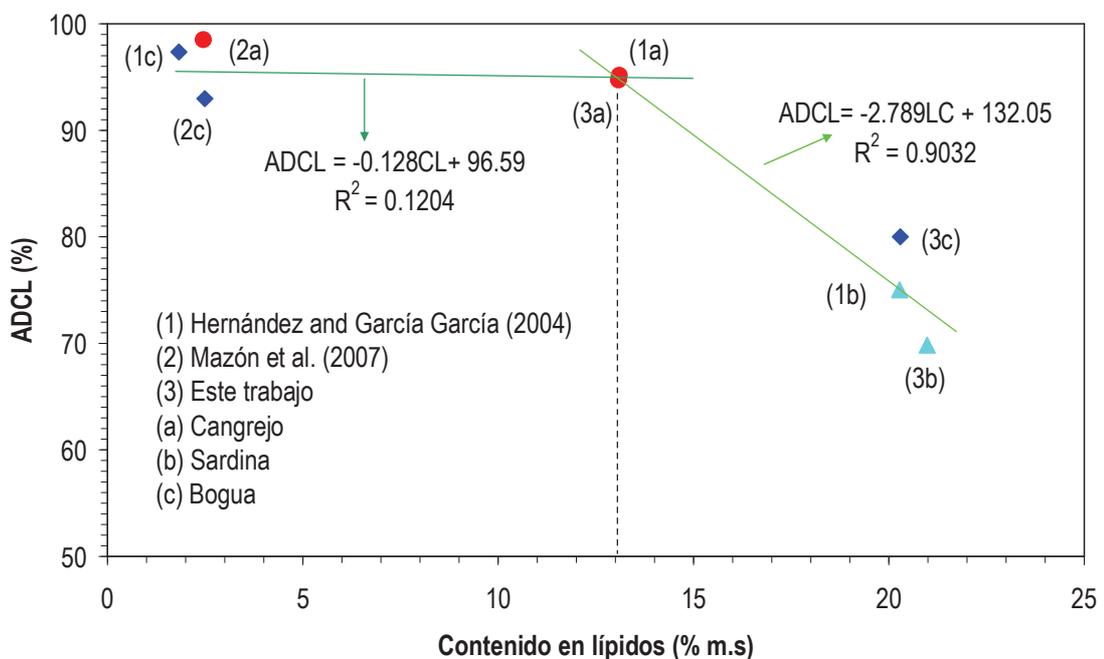


Figura 2. Relación entre el contenido en lípidos de la dieta (% en materia seca) y el coeficiente de digestibilidad aparente de lípidos en tres dietas naturales.

Bibliografía.

- Ballantyne J.S., Hochachka P.W., Mommsen T.P., 1981. Studies on the metabolism of the migratory squid, *Loligo opalescens*: enzymes of tissues and heart mitochondria. *Mar. Biol. Lett.* 2: 75-85.
- García García, B., Aguado-Giménez, F., 2002. Influence of diet on ongrowing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 211, 171-182.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) ongrowing. *Aquaculture* 253, 502-511.
- Hernández, M.D., García García, B., 2004. Digestibility of natural foods in common octopus (*Octopus vulgaris*). *Biotechnologies for Quality. Aquaculture Europe, Barcelona*, pp. 412-413.
- O'Dor, R.K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M.J., Wells, J., 1984. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Mar. Behav. Physiol.* 11, 239-258.
- Mazón, M.J., Piedecausa, M.A., Hernández, M.D., García García, B., 2007. Evaluation of environmental nitrogen and phosphorus contributions as a result of intensive ongrowing of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 266, 226-235.

2.3. DIETAS ARTIFICIALES DE ASPECTO “GOMOSO-GELATINOSO”.

2.3.1. Experimentos desarrollados en el IFAPA Centro “Agua del Pino”.

2.3.1.1. Efecto de dietas artificiales basadas en pasta de calamar o camarón y aglutinadas con gelatina, sobre el crecimiento del pulpo común.

IFAPA Centro “Agua del Pino”, C.A. de Andalucía.

El desarrollo de piensos preparados en sustitución del alimento natural es una prioridad para lograr el engorde de juveniles de pulpo (Domingues *et al.*, 2006). Su inexistencia en la actualidad (Domingues *et al.*, 2005; 2006) es el principal factor que impide la expansión de la industria del engorde de esta especie en el norte de España (Galicia). En la década de los 90, se inició el desarrollo de alimentos inertes para cefalópodos (Domingues *et al.*, 2005), con crecimiento negativo para *Sepia officinalis* o insuficiente en *O. vulgaris* (Quintana *et al.*, 2008).

En este estudio se probaron dos dietas basadas en pastas trituradas de calamar (*Loligo gayi*) o camarón (*Palaemonetes varians*), aglutinadas con gelatina, para determinar la aceptación y el crecimiento de juveniles de pulpo.

Material y métodos

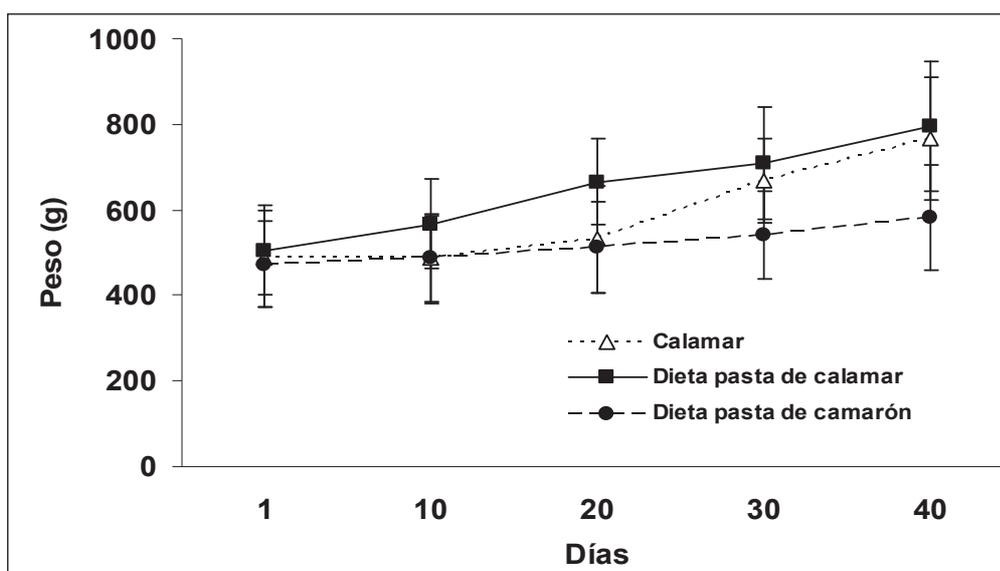
Los animales utilizados para el experimento (30 pulpos) fueron colocados individualmente en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio, de 140 L de capacidad, con tapa fija, y una abertura o puerta deslizante en acrílico, para impedir que se escapen. El sistema usado fue en abierto, con flujo de 25 L h⁻¹. La temperatura de cultivo fue de 19±1 °C, y el fotoperiodo fue de 10:14 h (luz:oscuridad).

Se tomaron 10 pulpos por dieta: Calamar (dieta control), Pasta de calamar (calamar triturado y gelatina como aglutinante) y Pasta de camarón (camarón triturado y gelatina). Los pesos iniciales fueron de 486.3±104.6 g, 505.7±114.1 g y 468.1±100.7 g, para los pulpos alimentados con calamar, la dieta basada en pasta de calamar y la dieta basada en pasta de camarón, respectivamente.

Los pulpos fueron alimentados una vez al día (09:00 h.) con una ración en torno al 10 % peso pulpo. d⁻¹. El alimento remanente y las heces de cada pulpo se recogieron una vez al día, justo antes de alimentar. Los restos de comida se pesaron y las heces se guardaron para posteriores análisis bioquímicos y calorimetría. Cada 10 días todos los animales fueron pesados en balanza analítica con el fin de ajustar el alimento suministrado, y determinar tasas de crecimiento y alimentación. La tasa de crecimiento fue mayor en los pulpos alimentados con calamar, seguida de la obtenida con pasta de calamar. Es muy baja para los pulpos alimentados con pasta de camarón. La tasa de crecimiento de cada grupo de pulpos según la dieta, fue calculada según la ecuación $GR = [(LnW_2 - LnW_1)/(T_2 - T_1)] \times 100$.

Resultados

Los pesos finales fueron de 867.6 ± 119.0 g, 796.4 ± 143.9 g y 582.8 ± 123.4 g, respectivamente. Los pulpos alimentados con calamar y con pasta de calamar tuvieron un mayor crecimiento similar ($p > 0.05$), y mayor ($p < 0.05$) que con la pasta de camarón, con la que prácticamente no crecieron.



Discusión

Ambas dietas fueron bien aceptadas por los pulpos. La gelatina en frío se reveló un buen aglutinante, particularmente para la pasta de calamar. Su consistencia fue bastante buena, (posiblemente debido a que el calamar contiene bastante colágeno, que aporta consistencia cuando mezclado con la gelatina), comparativamente a la dieta basada en pasta de camarón. La dieta artificial basada en pasta de calamar aglutinada con gelatina proporcionó mejor crecimiento que la pasta de camarón. Esto puede ser resultado de que el calamar sea un alimento mejor balanceado en su composición que el camarón, y también por la mejor consistencia de la dieta elaborada con pasta de calamar.

2.3.1.2 Efectos de dietas artificiales preparadas con dos aglutinantes y distintas concentraciones de hidrolizado de pescado (CPSP 90®) en el crecimiento y composición lipídica de la glándula digestiva.

IFAPA Centro “Agua del Pino”, C.A. de Andalucía.

En este estudio se probaron dos dietas basadas en pasta de calamar (*Loligo gayi*), aglutinadas con gelatina o alginato y distintas concentraciones de hidrolizado de pescado (CPSP 90®) en el crecimiento, aceptación y composición lipídica de la glándula digestiva de *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797).

Material y métodos

Los pulpos (30 por cada experimento) fueron capturados en las costas de Huelva con nasas, e individualizados en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio, de 140 L de capacidad. Se usó un sistema abierto, con flujo de 25 L h⁻¹. Los animales se aclimataron durante 4 días en los tanques antes de iniciar los experimentos. Los pulpos fueron alimentados una vez al día (09:00 h), con 10% de su peso d⁻¹. El alimento permanecía en el agua 4 horas y después era retirado y pesado. Cada experimento duró 30 días. Todos los pulpos fueron pesados individualmente cada 10 días. La temperatura de cultivo fue de 20±1 °C y se usó un fotoperiodo natural entre los meses de Marzo y Mayo. El flujo fue ajustado en todos los tanques para mantener la concentración de oxígeno cerca de la saturación.

El peso inicial en el experimento I fue de 359.9±149.7 g, 318.1±208.0 g y 268.9±115.4 g para los pulpos alimentados con calamar, GEL20 y GEL40, respectivamente. El peso inicial en el experimento II fue de 701,8±41,6 g, 578,9±157,4 g and 590,1±131,3 g respectivamente para los pulpos alimentados con calamar, ALG10 y ALG20, respectivamente. Al final del experimento, se recogieron muestras de glándula digestiva (GD) de 3 pulpos alimentados con cada una de las 3 dietas para análisis de su composición lipídica.

Dietas

Experimento I

Se usaron 3 dietas (10 pulpos por dieta): 1) Calamar congelado (*Loligo gahi*) como control, 2) pasta de calamar (*Loligo gahi*), (70%) y hidrolizado de pescado CPSP® (20%), aglutinados con 10% de gelatina (GEL20) y 3) pasta de calamar (*Loligo gahi*) (50%), hidrolizado de pescado CPSP® (40%), aglutinados con 10% de gelatine (GEL40). Las dietas 2 y 3 fueran preparadas cada 2 días, y se usó gelatina comercial (Panreac Aditio 80-100 Blooms).

Experimento II

Se usaron 3 dietas (10 pulpos por dieta): 1) Calamar congelado (*Loligo gahi*) como control, 2) pasta de calamar (*Loligo gahi*), (75%) y hidrolizado de pescado CPSP® (00%), aglutinados con 15% de alginato (ALG10) y 3) pasta de calamar (*Loligo gahi*) (65%), hidrolizado de pescado CPSP®

(20%), aglutinados con 15% de alginato (ALG20). Las dietas 2 y 3 fueran preparadas cada 2 días, y se uso alginato comercial (Pokel Merl[®], Pokel Cal[®], Prosur, España).

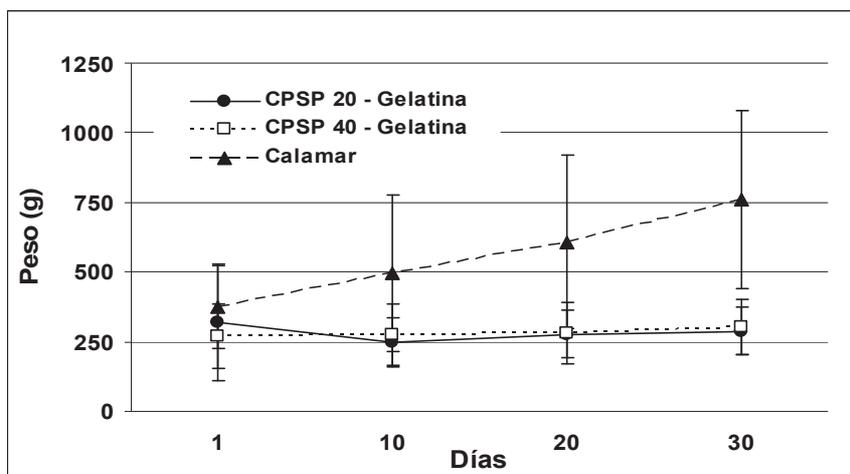
Lípidos y ácidos grasos

La humedad se determinó en muestras de 500 mg, según el método de Horwitz (1980). Los lípidos totales se extrajeron con cloroformo:metanol (2:1 v/v) con 0,01% de hidroxitolueno butilado (BHT) como antioxidante. El solvente orgánico fue evaporado bajo una corriente de nitrógeno y el contenido en lípidos determinado por gravimetría (Christie 1982). La separación en clases lipídicas se realizó mediante cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) usando como solvente polar metil-acetato/ isopropanol/ cloroformo/ metanol/ cloruro potásico (0,25% m/v) (25:25:25:10:9 vol.), y hexano/ dietil-éter/ ácido acético glacial (80:20:2 vol.) como solución para lípidos neutros. Las clases lipídicas resultantes fueron cuantificadas mediante densitometría, usando CAMAG TLC Scanner 3 (Olsen y Henderson 1989). Los lípidos totales extraídos también fueron sometidos a transmetilación ácido-catalizada durante 16 h a 50 ° C, usando 1 ml de tolueno y 2 ml de 1% de ácido sulfúrico (v/v) en metanol. Los ácidos metil-esterificados resultantes (FAME) se purificaron mediante cromatografía de capa fina (TLC) y visualizados con 1% de yodina en cloroformo:metanol (2:1 v/v) 98% (v/v) con 0,01% de BHT (Christie 1982). Previo a la metilación, el ácido nonadecanoico (19:0) fue añadido a la solución de lípidos totales como estándar interno. FAMEs fueron separados y cuantificados mediante un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC-2010) con detector de llama ionizante (250° C) y una columna capilar de cristal de sílice Tecnokroma Superwax-280TM (15 m x 0,10 mm I.D.). El helio se usó como gas transportador. La temperatura inicial del horno fue de 150° C, seguida de un aumento, a un ritmo de 90° C min⁻¹, hasta alcanzar una temperatura final de 250° C en 6 min. Los FAMEs fueron identificados individualmente basándose en unos patrones de referencia de estándares puros de aceite de pescado bien caracterizados (PUFA-3, Biosigma, España).

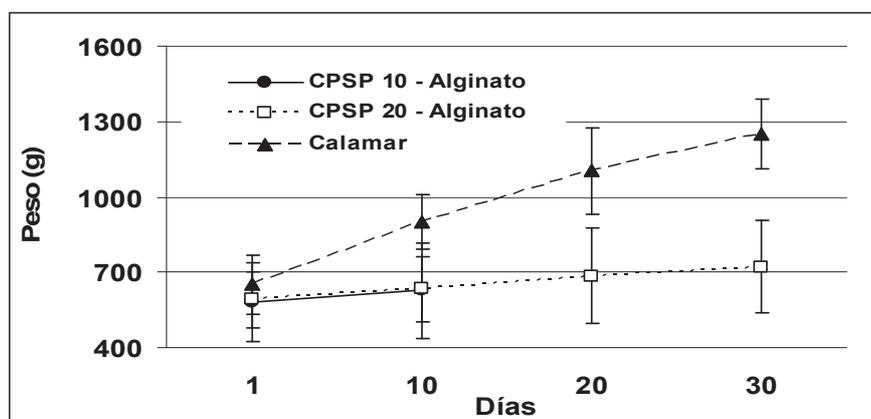
Resultados

A humedad de la GD fue diferente ($P < 0.05$) entre pulpos alimentados con las distintas dietas, en ambos experimentos. Las GD de pulpos alimentados con las dietas artificiales tenían humedad similar ($P > 0.05$), siendo esta mayor ($P < 0.05$) que en los pulpos alimentados con calamar. De igual manera, la humedad de las dietas fue diferente ($P < 0.05$) en ambos experimentos, siendo siempre más baja en las dietas artificiales, comparado con el calamar.

Los pesos de los pulpos en el primer experimento se encuentran representados en la Figura 1. Los animales alimentados con calamar crecieron más ($P < 0.05$) comparados con los alimentados con dietas artificiales, sin diferencias entre estas ($P > 0.05$). El peso final para pulpos alimentados con calamar, GEL20 y GEL40 fue de 757.6±319.4 g, 288.4±85.2 g, y 302.8±98.4 g, respectivamente. Las tasas de crecimiento para el experimento fueron de 25.1±3.2 g kg⁻¹ d⁻¹, 8.9±5.8 g kg⁻¹ d⁻¹ and 6.1±4.9 g kg⁻¹ d⁻¹, para pulpos alimentados con calamar, GEL20 y GEL40 respectivamente, siendo más altas ($P < 0.05$) para los alimentados con calamar.



Los pesos de los pulpos en el experimento II se encuentran representados en la Figura 2. Los pulpos alimentados con calamar crecieron más ($P < 0.05$) comparados con los alimentados con dietas artificiales, sin diferencias entre estas ($P > 0.05$). El peso final para pulpos alimentados con calamar, ALG10 y ALG20 fue de 1249.8 ± 136.8 g, 628.2 ± 116.7 g, and 722.1 ± 183.2 g, respectivamente. Las tasas de crecimiento para el experimento fueron de 18.3 ± 3.3 g $\text{kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, 8.0 ± 5.1 g $\text{kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, and 5.9 ± 5.0 g $\text{kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, para pulpos alimentados con calamar, ALG10 y ALG20, respectivamente, siendo más altas ($P < 0.05$) para los alimentados con calamar.



Los lípidos totales (g kg^{-1} ps) en la GD de pulpos alimentados con calamar y GEL20 fue similar ($P > 0.05$) y más alto ($P < 0.05$) que para los alimentados con GEL40 (Tabla 1). Para el experimento II, la concentración de los lípidos totales (g kg^{-1} dw) en DG de pulpos alimentados con calamar fueron más elevadas ($P < 0.05$) que para los alimentados con dietas artificiales. Así mismo, las concentraciones en los alimentados con ALG10 fueron superiores, comparados con ALG20 (Tabla 3).

No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en concentraciones de monoeno (en % de Ácidos Grasos, AG) en los animales alimentados con las dietas artificiales en los dos experimentos (Tablas 2 y 4), pero estas eran menores ($P < 0.05$) en las GD de pulpos alimentados con calamar en el experimento I (Tabla 2). El ácido graso saturado presente en mayor concentración fue ácido

palmítico (16:0) en animales alimentados con todas las dietas en ambos experimentos, tanto en contenido total (Tablas 1 y 3) y % de AG (Tablas 2 y 4).

Para ambos experimentos, se encontraron mayores concentraciones ($P < 0.05$) de n-3 HUFA, tanto en contenido total (Tablas 1 y 3) y % de AG (Tablas 2 y 4) en GD de pulpos alimentados con calamar, comparado con los alimentados con las dietas artificiales, estas con concentraciones similares ($P > 0.05$). Esto se puede explicar por las diferencias de las concentraciones de DHA (22:6 n-3) y EPA (20:5 n-3). Estos n-3 HUFA representan casi la mitad de los AG presentes en la GD de animales alimentados con calamar, y solamente 30 % en la GD de animales alimentados con las dietas artificiales (Tablas 2 y 4). El DHA y el EPA son los más importantes AG en %, en los animales alimentados con calamar, comparados con los alimentados con dietas artificiales (Tablas 2 y 4).

Para ambos experimentos, el n-6 más importante fue el ARA (ácido araquidónico; 20:4 n-6) (Tablas 2 ta 4). El ácido linoleico (18:2 n-6) fue el n-6 más importante en la GD de pulpos alimentados con las dietas artificiales (Tablas 1 y 2). El grupo n-6 fue más importante en % de AG para los animales alimentados con dietas artificiales ($P < 0.05$) (Tablas 2 y 4).

El ratio DHA/EPA fue similar en las GD de los pulpos alimentados con todas las dietas, mientras que los ratios entre EPA/ARA y DHA/ARA fueron mayores ($P < 0.05$) en pulpos alimentados con calamar en ambos experimentos ($P > 0.05$) (Tablas 1 y 3).

Tabla 1. Humedad de las dietas (g kg^{-1} ph), glándula digestiva (g kg^{-1} ph), lípidos totales (g kg^{-1} ps) de pulpos y ácidos grasos de la GD (g kg^{-1} ps) alimentados con 3 dietas en el experimento I.

Composición dieta	Calamar	GEL20	GEL40
Humedad dieta	795 ± 7 a	675 ± 3 b	633 ± 5 b
Humedad GD	655 ± 20 a	739 ± 9 b	731 ± 10 b
Lípidos totales	464 ± 142 a	383 ± 90 a	246 ± 57 b
14:0	6.44 ± 1.84	5.51 ± 2.27	3.83 ± 1.39
15:0	1.96 ± 1.23 a	0.62 ± 0.25 b	0.60 ± 0.52 b
16:0	49.10 ± 13.55	37.04 ± 14.11	25.21 ± 8.26
16:1 n-7	2.31 ± 1.31 a	8.25 ± 3.49 b	6.35 ± 2.61 b
16:1 n-5	1.20 ± 0.66 a	0.44 ± 0.11 b	0.42 ± 0.26 b
17:0	1.17 ± 0.35 a	0.68 ± 0.31 b	0.45 ± 0.17 b
16:4	1.57 ± 0.47	2.36 ± 0.81	1.46 ± 0.43
18:0	8.30 ± 2.29	11.03 ± 3.66	6.61 ± 3.19
18:1 n-9	6.45 ± 1.34 a	37.20 ± 13.26 b	26.50 ± 8.58 b
18:1 n-7	4.27 ± 1.08	6.48 ± 2.17	4.80 ± 1.36
18:2 n-6	0.82 ± 0.32 a	8.78 ± 4.90 b	5.56 ± 1.79 b
20:1 n-9	9.25 ± 2.36	14.08 ± 3.94	9.56 ± 3.11
20:2 n-6	0.87 ± 0.21	1.58 ± 0.53	1.11 ± 0.44

20:4 n-6	3.80 ± 1.00	5.29 ± 1.86	4.89 ± 3.26
20:4 n-3	0.28 ± 0.10 a	1.07 ± 0.39 b	0.83 ± 0.33 b
20:5 n-3	29.85 ± 8.29 a	17.42 ± 5.51 b	10.58 ± 4.21 b
22:1 n-11	0.38 ± 0.28 a	7.24 ± 1.90 b	4.43 ± 1.28 b
22:1 n-9	1.60 ± 0.41	2.51 ± 0.73	1.47 ± 0.40
22:5 n-3	0.93 ± 0.27 a	3.89 ± 2.76 b	2.15 ± 0.79 b
22:6 n-3	73.40 ± 22.33 a	36.47 ± 15.28 b	21.54 ± 7.87 b
Totales			
Saturados	67.22 ± 19.07 a	55.21 ± 20.54 a	36.96 ± 11.85 b
Monoenos	29.94 ± 6.58 a	77.42 ± 25.12 b	52.65 ± 16.25 b
PUFA	116.27 ± 32.77 a	84.07 ± 33.59 a	53.46 ± 20.62 b
n-3	106.53 ± 31.02 a	63.09 ± 24.60 b	38.13 ± 14.05 b
n-6	6.15 ± 1.47 a	16.57 ± 7.57 b	12.27 ± 5.72 ab
n-9	17.30 ± 4.08 a	53.79 ± 17.63 b	37.53 ± 12.03 b
n-3 HUFA	104.54 ± 30.64 a	59.12 ± 23.17 b	35.31 ± 13.14 b
n-3/n-6	17.22 ± 1.83 a	3.88 ± 0.39 b	3.29 ± 0.58 b
DHA/EPA	2.42 ± 0.23	2.05 ± 0.34	2.05 ± 0.16
EPA/ARA	7.76 ± 0.51 a	3.21 ± 0.50 b	2.60 ± 1.12 b
DHA/ARA	18.86 ± 2.98 a	6.50 ± 0.79 b	5.37 ± 2.44 b
Mon/n-3 HUFA	0.26 ± 0.03 a	1.34 ± 0.12 b	1.52 ± 0.17 b
Mon/PUFA	0.23 ± 0.02 a	0.94 ± 0.08 b	1.01 ± 0.11 b
Mon/Sat	0.41 ± 0.07 a	1.42 ± 0.08 b	1.44 ± 0.20 b
18:1 n9/n-3 HUFA	0.06 ± 0.01 a	0.68 ± 0.12 b	0.80 ± 0.12 b

Tabla 2. Ácidos grasos de lípidos totales (% peso seco, ps) de GD de pulpos alimentados con 3 dietas en el experimento I.

Composición dieta	Calamar	GEL20	GEL40
14:0	2.86 ± 0.21 a	2.48 ± 0.23 b	2.54 ± 0.11 b
15:0	0.84 ± 0.46	0.28 ± 0.01	0.37 ± 0.21
16:0	21.88 ± 2.22 a	16.72 ± 0.51 b	16.86 ± 0.57 b
16:1 n-7	1.02 ± 0.45 a	3.72 ± 0.44 b	4.14 ± 0.39 b
16:1 n-5	0.53 ± 0.28	0.21 ± 0.03	0.26 ± 0.09
17:0	0.53 ± 0.12	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.04
16:4	0.70 ± 0.12 a	1.07 ± 0.06 b	0.99 ± 0.13 b
18:0	3.70 ± 0.38	5.04 ± 0.26	4.68 ± 1.87
18:1 n-9	2.95 ± 0.45 a	16.89 ± 0.62 b	17.72 ± 0.83 b
18:1 n-7	1.92 ± 0.17 a	2.97 ± 0.30 b	3.26 ± 0.33 b
18:2 n-6	0.40 ± 0.25 a	3.82 ± 0.77 b	3.74 ± 0.46 b
20:1 n-9	4.15 ± 0.23 a	6.54 ± 0.75 b	6.41 ± 0.35 b
20:2 n-6	0.39 ± 0.03 a	0.72 ± 0.09 b	0.74 ± 0.08 b

20:4 n-6	1.70 ± 0.03 a	2.41 ± 0.13 ab	2.95 ± 1.22 b
20:4 n-3	0.13 ± 0.03 a	0.48 ± 0.01 b	0.55 ± 0.07 b
20:5 n-3	13.31 ± 0.70 a	8.03 ± 1.06 b	7.00 ± 0.87 b
22:1 n-11	0.19 ± 0.12 a	3.40 ± 0.53 b	3.49 ± 0.48 b
22:1 n-9	0.72 ± 0.07 a	1.17 ± 0.17 b	1.00 ± 0.08 b
22:5 n-3	0.42 ± 0.08 a	1.64 ± 0.58 b	1.44 ± 0.22 b
22:6 n-3	32.88 ± 4.60 a	16.21 ± 1.12 b	14.42 ± 1.97 b
Totales			
Saturados	29.92 ± 3.40 a	24.97 ± 0.52 b	24.91 ± 2.48 b
Monoenos	12.12 ± 0.74 a	35.45 ± 1.56 b	35.48 ± 2.25 b
PUFA	52.07 ± 5.17 a	37.59 ± 1.54 b	35.30 ± 3.78 b
n-3	47.68 ± 5.40 a	28.26 ± 1.32 b	25.43 ± 3.07 b
n-6	2.78 ± 0.28 a	7.35 ± 0.73 b	7.87 ± 1.36 b
n-9	7.81 ± 0.69 a	24.60 ± 1.18 b	25.14 ± 0.89 b
n-3 HUFA	46.79 ± 5.41 a	26.49 ± 1.33 b	23.55 ± 2.98 b

Tabla 3. Humedad de las dietas (g kg⁻¹ ph), glándula digestiva (g kg⁻¹ ph), lípidos totales (g kg⁻¹ ps) de pulpos y ácidos grasos de la GD (g kg⁻¹ ps) alimentados con 3 dietas en el experimento II.

Composición dieta	Calamar	ALG 10	ALG 20
Humedad dieta	789 ± 8 a	722 ± 18 b	713 ± 15 b
Humedad GD	657 ± 21 a	730 ± 24 b	722 ± 23 b
Lípidos totales	276 ± 53 a	157 ± 18 b	86 ± 43 c
14:0	3.56 ± 0.94 a	0.77 ± 0.50 b	1.43 ± 0.37 b
15:0	1.03 ± 1.44	0.45 ± 0.55	0.41 ± 0.26
16:0	30.07 ± 5.85 a	9.55 ± 3.86 b	14.29 ± 1.78 b
16:1 n-7	2.06 ± 0.57	1.30 ± 0.83	2.13 ± 0.78
16:1 n-5	0.54 ± 0.23 a	0.15 ± 0.07 b	0.22 ± 0.06 b
17:0	0.53 ± 0.09 a	0.32 ± 0.10 b	0.34 ± 0.07 b
16:4	0.65 ± 0.28	0.79 ± 0.13	0.79 ± 0.17
18:0	5.00 ± 0.84 a	3.16 ± 0.83 b	4.04 ± 0.39 a
18:1 n-9	4.10 ± 1.14	4.22 ± 2.66	6.24 ± 1.32
18:1 n-7	2.59 ± 0.51 a	1.27 ± 0.67 b	1.99 ± 0.24 a
18:2 n-6	0.53 ± 0.44	0.44 ± 0.28	1.14 ± 0.70
20:1 n-9	5.76 ± 1.52	3.02 ± 1.64	4.23 ± 0.65
20:2 n-6	0.56 ± 0.26	0.25 ± 0.16	0.36 ± 0.07
20:4 n-6	2.50 ± 0.49 a	1.09 ± 0.28 b	1.44 ± 0.25 b
20:4 n-3	0.22 ± 0.06	0.11 ± 0.08	0.22 ± 0.09
20:5 n-3	20.90 ± 5.14 a	3.87 ± 1.76 b	5.96 ± 1.35 b

22:1 n-11	0.99 ± 0.43	0.80 ± 0.50	1.14 ± 0.33
22:1 n-9	0.36 ± 0.25 a	0.68 ± 0.35 b	0.92 ± 0.13 b
22:5 n-3	1.03 ± 0.44 a	0.33 ± 0.17 b	1.06 ± 0.75 a
22:6 n-3	54.81 ± 17.73 a	9.35 ± 5.14 b	16.37 ± 2.55 b
Totales			
Saturados	39.86 ± 8.73 a	14.02 ± 5.42 b	20.27 ± 2.51 b
Monoenos	17.26 ± 3.81	11.78 ± 6.72	17.28 ± 2.90
PUFA	84.18 ± 24.17 a	17.47 ± 8.24 b	29.41 ± 3.92 b
n-3	78.30 ± 23.15 a	14.15 ± 7.31 b	24.43 ± 3.59 b
n-6	4.09 ± 0.87 a	1.94 ± 0.64 b	3.26 ± 0.63 a
n-9	10.16 ± 2.36	7.92 ± 4.55	11.39 ± 1.71
n-3 HUFA	76.86 ± 22.84 a	13.58 ± 7.02 b	23.46 ± 3.56 b
n-3/n-6	19.06 ± 2.86 a	6.91 ± 1.98 b	7.68 ± 1.71 b
DHA/EPA	2.58 ± 0.19	2.28 ± 0.43	2.81 ± 0.46
EPA/ARA	8.29 ± 0.55 a	3.46 ± 1.15 b	4.14 ± 0.59 b
DHA/ARA	21.48 ± 2.79 a	8.19 ± 3.62 b	11.58 ± 2.21 b
Mon/n-3 HUFA	0.23 ± 0.03 a	0.85 ± 0.20 b	0.75 ± 0.16 b
Mon/PUFA	0.21 ± 0.02 a	0.64 ± 0.16 b	0.59 ± 0.11 b
Mon/Sat	0.43 ± 0.04 a	0.78 ± 0.25 b	0.85 ± 0.06 b
18:1 n9/n-3 HUFA	0.06 ± 0.02 a	0.29 ± 0.10 b	0.27 ± 0.07 b

Tabla 4. Ácidos grasos de lípidos totales (% peso seco, ps) de GD de pulpos alimentados con 3 dietas en el experimento II.

Composición dieta	Calamar	ALG10	ALG20
14:0	2.43 ± 0.18 a	1.56 ± 0.49 b	2.01 ± 0.41 ab
15:0	0.66 ± 0.73	0.95 ± 0.92	0.56 ± 0.29
16:0	20.80 ± 2.05	21.60 ± 3.03	20.27 ± 1.08
16:1 n-7	1.41 ± 0.20 a	2.62 ± 0.81 b	2.99 ± 0.88 b
16:1 n-5	0.36 ± 0.07	0.33 ± 0.08	0.30 ± 0.07
17:0	0.38 ± 0.09	0.67 ± 0.35	0.48 ± 0.08
16:4	0.46 ± 0.22 a	2.14 ± 1.20 b	1.14 ± 0.30 ab
18:0	3.49 ± 0.53 a	7.75 ± 2.59 b	5.77 ± 0.67 ab
18:1 n-9	2.88 ± 0.87 a	8.42 ± 2.53 b	8.82 ± 1.22 b
18:1 n-7	1.79 ± 0.21 a	2.67 ± 0.48 b	2.82 ± 0.06 b
18:2 n-6	0.38 ± 0.36 a	0.95 ± 0.40 ab	1.58 ± 0.88 b
20:1 n-9	3.93 ± 0.38 a	6.22 ± 1.15 b	6.03 ± 0.98 b
20:2 n-6	0.37 ± 0.09	0.50 ± 0.17	0.51 ± 0.12
20:4 n-6	1.73 ± 0.12 a	2.71 ± 1.05 b	2.06 ± 0.43 ab
20:4 n-3	0.15 ± 0.03 a	0.21 ± 0.08 ab	0.31 ± 0.11 b
20:5 n-3	14.30 ± 0.91 a	8.59 ± 1.55 b	8.52 ± 2.09 b

22:1 n-11	0.72 ± 0.30 a	1.59 ± 0.45 b	1.61 ± 0.41 b
22:1 n-9	0.20 ± 0.26 a	1.46 ± 0.32 b	1.32 ± 0.24 b
22:5 n-3	0.73 ± 0.35	0.73 ± 0.20	1.45 ± 0.97
22:6 n-3	36.89 ± 2.89 a	19.46 ± 4.38 b	23.20 ± 2.84 b
Totales			
Saturados	27.78 ± 2.60	32.76 ± 5.48	29.22 ± 1.48
Monoenos	11.87 ± 0.95 a	24.03 ± 5.04 b	24.47 ± 2.47 b
PUFA	57.05 ± 3.34 a	37.88 ± 4.55 b	41.71 ± 3.68 b
n-3	52.99 ± 3.36 a	30.02 ± 5.38 b	34.67 ± 4.05 b
n-6	2.82 ± 0.46 a	4.52 ± 0.85 b	4.61 ± 0.57 b
n-9	6.98 ± 0.67 a	16.10 ± 3.61 b	16.17 ± 1.69 b
n-3 HUFA	52.16 ± 3.38 a	29.03 ± 5.33 b	33.60 ± 4.14 b

Discusión

En el presente experimento se usaron dietas artificiales genuinas, con distintos ingredientes como CPSP, y no apenas usando pastas de pescado, calamar o crustáceos aglutinadas, como en experimentos anteriores, y como en estos, las tasas de crecimiento con las dietas preparadas fue muy inferior a las obtenidas con dietas naturales. Así mismo, las tasas de crecimiento fueron superiores a las obtenidas anteriormente, acercándose al 1% de su peso d⁻¹. El menor crecimiento obtenido con las dietas artificiales se reflejó en la composición lipídica y en ácidos grasos de la GD. La mayoría de los grupos de ácidos grasos más importantes, como n-3 HUFA, y particularmente EPA y DHA estaban presentes en menor concentración en las GD de los pulpos alimentados con las dietas artificiales. Este hecho confirma que la GD es un buen candidato para estudios del efecto de distintas dietas en la condición y composición lipídica en *Octopus vulgaris*.

2.3.1.3 Crecimiento, balance energético, composición lipídica del manto y de la glándula digestiva de *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) alimentado con dietas artificiales utilizando aglutinantes distintos.

IFAPA Centro “Agua del Pino”, C.A. de Andalucía.

En este estudio se probaron dos dietas basadas en pasta de calamar (*Loligo gahi*), aglutinadas con gelatina o alginato y distintas concentraciones de hidrolizado de pescado (CPSP 90[®]) en el crecimiento, aceptación, balance energético, y composición lipídica del manto y de la glándula digestiva de *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797).

Material y métodos

Los pulpos (30 por cada experimento) fueron capturados en las costas de Huelva con nasas, e individualizados en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio, de 140 L de capacidad. Se usó un sistema abierto, con flujo de 25 L h⁻¹. Los animales se aclimataron durante 4 días en los tanques antes de iniciar el experimento. Los pulpos fueron alimentados una vez al día (09:00 h), con 10% de su peso d⁻¹. El alimento permanecía en el agua 4 horas y después era retirado y pesado. El experimento duró 30 días. Todos los pulpos fueron pesados individualmente cada 10 días. La temperatura de cultivo fue de 15±1 °C y se usó un fotoperiodo natural entre los meses de Febrero y Marzo. El flujo fue ajustado en todos los tanques para mantener la concentración de oxígeno cerca de la saturación.

El peso inicial fue de 359.9±149.7 g, 318.1±208.0 g y 268.9±115.4 g para los pulpos alimentados con calamar, GEL20 y GEL40, respectivamente. Al final del experimento, se recogieron muestras de manto y de glándula digestiva (GD) de 3 pulpos alimentados con cada una de las 3 dietas para análisis de su composición lipídica.

Dietas

Se usaron 3 dietas (10 pulpos por dieta): 1) CON, Calamar congelado (*Loligo gahi*) como control, 2) GEL, pasta de calamar (*Loligo gahi*), (30%) y hidrolizado de pescado CPSP[®] (10%), harina de pescado (50%), aglutinados con 10% de gelatina y 3) ALG, pasta de calamar (*Loligo gahi*), (30%) y hidrolizado de pescado CPSP[®] (10%), harina de pescado (50%), aglutinados con 10% de alginato. Las dietas 2 y 3 fueran preparadas cada 2 días, y se usó gelatina comercial (Panreac[®] Aditio 80-100 Blooms) y alginato comercial (Pokel Merl[®], Pokel Cal[®], Prosur, España). La harina de pescado era de PIENSOS MAQUEDA S.L. (Sevilla, España), y el hidrolizado de pescado (CPSP[®]) fue cedido por Sopropeche, (France).

El peso inicial de los pulpos alimentados con las 3 dietas era similar ($P > 0.05$), siendo de 713.0±92.9 g, 708.3±152.3 g y 717.8±144.3 g, para los pulpos alimentados con CON, GEL and ALG, respectivamente.

Balance energético

La ecuación del balance energético que representa el flujo de energía en *O. vulgaris* es $I = P + R_{tot} + U_{tot} + F$ donde I es la energía ingerida, P es la energía invertida en crecimiento somático y gonadal, R_{tot} es la energía invertida en respiración, U_{tot} es la energía excretada y F es la energía perdida en las heces (Lucas, 1993). La energía total ingerida se calcula como $I = IR \times EFC$, donde IR es la tasa de ingestión $g\ d^{-1}\ Kg^{-1}$ de animal y EFC es la energía del alimento ($Kj\oules\ g^{-1}$). La tasa de ingestión (I) se calculó entre la diferencia del peso del alimento que se introdujo en el tanque menos el retirado después de 4 h, corregidos posteriormente por los porcentajes de absorción y lixiviación.

La energía absorbida (Ab) se obtiene del cálculo de la eficiencia de absorción (Ab , %) definida como: $AE = [(I' - F') / (1 - F')] \times 100$ (Condrey *et al.*, 1972) donde I' es el ratio del peso seco libre de cenizas ($afdw$) y el peso seco (dw) del alimento y F' es el ratio entre $afdw$ y el peso seco de las heces. El dw y $afdw$ del alimento y de las heces se han obtenido por secado a $60^\circ C$ hasta peso constante, y posteriormente poner lo restante en una mufla a $500^\circ C$ durante 4h, respectivamente. La energía absorbida se calculó como: $Ab = I \times AE$.

La energía producida (P) se calculó usando las tasas de crecimiento obtenidas durante el experimento. El valor de $18.8 \pm 0.72\ Kj\ g^{-1}\ dw$ se usó para transformar los datos de crecimiento en unidades de producción (P ; $Kj\ g^{-1}\ dw\ d^{-1}$). Este valor se ha obtenido a través de la determinación de la energía contenida en 10 animales, utilizándose una bomba calorimétrica (Parr®), previamente calibrada con ácido benzoico.

El consumo de oxígeno y excreción de amonio ($mg\ h^{-1}$) se midieron en 9 pulpos en ayuno, al final del experimento. El consumo de oxígeno y excreción de amonio se determinaron individualmente en una cámara respirométrica de flujo continuo en un sistema abierto. Las mediciones se realizaron durante 9 horas, entre las 8:30 y 17:30 h. El valor de consumo medio de oxígeno se calculó como $VO_2 = O_{2e} - O_{2ex} \times Fr$, donde VO_2 es el consumo de oxígeno ($mg\ O_2\ h^{-1}\ animal^{-1}$), O_{2e} es la concentración de oxígeno a la entrada de la cámara ($mg\ l^{-1}$), O_{2ex} es la concentración de oxígeno a la salida de la cámara ($mg\ l^{-1}$), y Fr es el flujo ($L\ hr^{-1}$). Las mediciones de consumo de oxígeno se realizaron con un oxímetro digital (YSI 50B digital, USA). La excreción de amonio se calculó como $N-NH_3 = NH_{3ex} - NH_{3e} \times Fr$, donde $N-NH_3$ es la excreción nitrogenada ($mg\ N-NH_3\ h^{-1}\ animal^{-1}$), NH_{3ex} es la concentración a la salida de la cámara ($mg\ l^{-1}$), NH_{3e} la concentración a la entrada de la cámara ($mg\ l^{-1}$) Fr el flujo ($L\ hr^{-1}$). Se usaron dos factores de conversión de 14.3 y 20.5 $Kj\ mg^{-1}$ para el oxígeno y amonio, respectivamente, para transformar los valores de los VO_2 y $N-NH_3$ de pulpos en ayuno y alimentados en unidades de energía ($Kj\ h^{-1}\ animal^{-1}$) R y U , respectivamente (Lucas 1993). Considerando que el peso de los pulpos (R) and U se expresan como $Kj\ Kg^{-1}\ d^{-1}$ peso húmedo (ph), los valores de consumo de oxígeno y excreción nitrogenada se transformaron a $\mu g-At\ Kg^{-1}\ h^{-1}$ y el ratio atómico O:N ratio fue estimado.

Las eficiencias brutas de asimilación, respiración y excreción se calcularon como $R/I \times 100$, $U/I \times 100$ y $P/I \times 100$, respectivamente. Eficiencias netas de respiración (R) y producción (PE) se calcularon como $R/Ab \times 100$ y $P/Ab \times 100$, respectivamente. El requerimiento energético (E), en función de la masa corporal ($B = 1\ kg$) se calculó como: $E(B) = Ab - R - P$, expresados en $Kj\ kg^{-1}\ d^{-1}$.

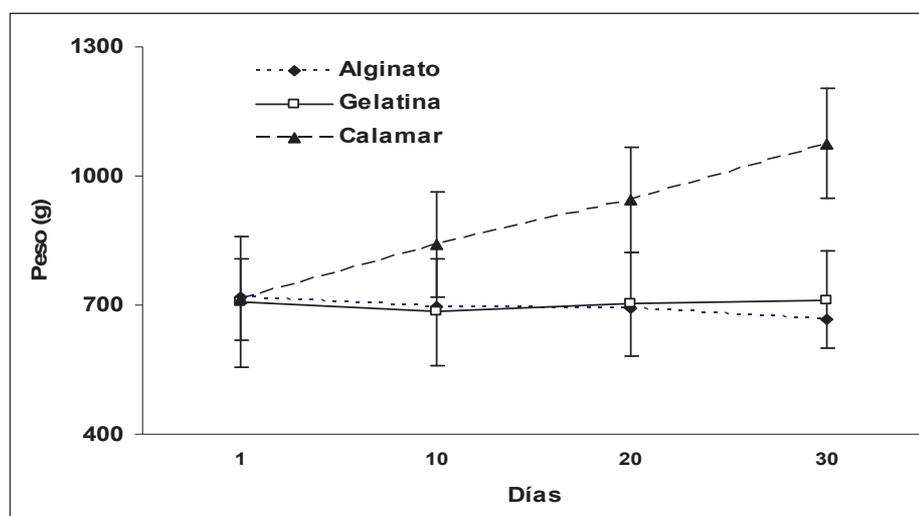
Lípidos y ácidos grasos

La humedad se determinó en muestras de 500 mg, según el método de Horwitz (1980). Los lípidos totales se extrajeron con cloroformo:metanol (2:1 v/v) con 0,01% de hidroxitolueno butilado

(BHT) como antioxidante. El solvente orgánico fue evaporado bajo una corriente de nitrógeno y el contenido en lípidos determinado por gravimetría (Christie 1982). La separación en clases lipídicas se realizó mediante cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) usando como solvente polar metil-acetato/ isopropanol/ cloroformo/ metanol/ cloruro potásico (0,25% m/v) (25:25:25:10:9 vol.), y hexano/ dietil-éter/ ácido acético glacial (80:20:2 vol.) como solución para lípidos neutros. Las clases lipídicas resultantes fueron cuantificadas mediante densitometría, usando CAMAG TLC Scanner 3 (Olsen y Henderson 1989). Los lípidos totales extraídos también fueron sometidos a transesterificación ácido-catalizada durante 16 h a 50 ° C, usando 1 ml de tolueno y 2 ml de 1% de ácido sulfúrico (v/v) en metanol. Los ácidos metil-esterificados resultantes (FAME) se purificaron mediante cromatografía de capa fina (TLC) y visualizados con 1% de yodina en cloroformo:metanol (2:1 v/v) 98% (v/v) con 0,01% de BHT (Christie 1982). Previo a la metilación, el ácido nonadecanoico (19:0) fue añadido a la solución de lípidos totales como estándar interno. FAMES fueron separados y cuantificados mediante un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC-2010) con detector de llama ionizante (250° C) y una columna capilar de cristal de sílice Tecnokroma Superwax-280TM (15 m x 0,10 mm I.D.). El helio se usó como gas transportador. La temperatura inicial del horno fue de 150° C, seguida de un aumento, a un ritmo de 90° C min⁻¹, hasta alcanzar una temperatura final de 250° C en 6 min. Los FAMES fueron identificados individualmente basándose en unos patrones de referencia de estándares puros de aceite de pescado bien caracterizados (PUFA-3, Biosigma, España).

Resultados

Los pulpos alimentados con CON crecieron más ($P < 0.05$) comparados con los alimentados con las dietas artificiales (Figura 1). El peso final fue de 1075.8 ± 127.8 g, 712.3 ± 113.4 g, y 667.8 ± 134.7 g, respectivamente, para pulpos alimentados con CON, GEL y ALG. El calamar (CON) también proporciono tasas de crecimiento más elevadas ($P < 0.05$), que fueron de 1.4 ± 0.2 % d⁻¹, 0.2 ± 0.2 % d⁻¹, y -0.2 ± 0.2 % d⁻¹, para CON, GEL y ALG, respectivamente. Las tasas de ingestión para CON, GEL y CAL fueron de 6.9 ± 0.3 % d⁻¹, 7.1 ± 0.3 % d⁻¹, y 7.3 ± 0.3 % d⁻¹, respectivamente, sin diferencias ($P > 0.05$) entre las 3 dietas. La conversión de alimento para pulpos alimentados con ALG fueron negativas, mientras que para CON y GEL fueron de 21.5 ± 1.5 % y 3.2 ± 1.1 %, respectivamente. El tipo de dieta no afecto la tasa de ingestión.



Los resultados de la calorimetría indican que las dietas tenían distintas concentraciones de energía ($P < 0.05$), siendo esta más alta en las dietas artificiales en comparación con el calamar (CON) (Tabla 1). En consecuencia, el tipo de dieta afectó la energía ingerida, siendo más elevada en ALG que en las restantes dietas (GEL y CON), respectivamente (Tabla 1). La eficiencia de absorción (%) fue igualmente afectada por el tipo de dieta, siendo más alta ($P < 0.05$) en animales alimentados con CON y GEL (79.5% y 82.3%, respectivamente), comparado con ALG (41%) (Tabla 1).

Tabla 1 - Ingestion rate ($\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$), ingested, absorbed and production energy of *O. vulgaris* fed squid bound alginate (ALG) and gelatin (GEL). Fresh squid used as control diet (CON). Values as Mean \pm S.E. Different letters indicate statistical differences at $P < 0.05$ level.

	Type of diet								
	ALG			GEL			CON		
Initial weight, g	717.77	\pm 45.63	^a	692.34	\pm 42.9	^a	713.0	\pm 42.9	^a
Final weight, g	618.16	\pm 65.88	^a	712.32	\pm 35.9	^b	1075.8	\pm 35.9	^c
Experimental Days	30			30			30		
Ingestion Rate $\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$	89.56	\pm 0.92	^a	83.26	\pm 1.34	^a	87.38	\pm 0.51	^a
Energy of Food, Kj g^{-1}	17.35	\pm 0.26	^b	17.00	\pm 0.31	^b	14.48	\pm 0.21	^a
Ingested energy, $\text{Kj kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$	1553.8	\pm 16	^c	1415.4	\pm 22.8	^b	1265.3	\pm 6.96	^a
Production $\text{Kj kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$	-59.76	\pm 8.51	^a	12.0	\pm 5.62	^b	217.6	\pm 4.68	^c
Absorption Efficiency, %	40.8	\pm 3.71	^a	79.5	\pm 6.36	^b	82.3	\pm 6.5	^b

El consumo de oxígeno en ayuno fue menor con ALG ($p < 0.05$) comparado con GEL y CON. (Tabla 2). El pico de consumo se observó 3 horas después de alimentados, siendo más alto con las dietas GEL y CON que con fed ALG (Tabla 2). Se observó un pico de excreción después de alimentar, que fue a las 2 h para ALG, y de 4 y 6 h para GEL y CON, respectivamente. La excreción pos prandial para los pulpos alimentados con calamar fue 46% ($p < 0.05$) menor comparada con la obtenida utilizando las dietas artificiales (Tabla 2). Los valores del ratio O:N en ayuno o alimentados variaron entre 4 y 15, indicando un metabolismo proteico ratio para las 3 dietas. Los valores más elevados ($P < 0.05$) se registraron cuando alimentando con calamar, en comparación con las dos dietas artificiales (Tabla 2).

Tabla 2 – Consumo de oxígeno y excreción nitrogenada en *O. vulgaris* alimentados con ALG, GEL y CON. Las letras indicant diferencias significativas ($P < 0.05$).

Oxygen consumption	Fasting		Feeding		TRP	RRut	RAHI	RTot
	mgO ₂ h ⁻¹ kg ⁻¹		mgO ₂ h ⁻¹ kg ⁻¹					
ALG	2821.38	± 83.80 ^a	4983.37	± 125.03 ^a	3	793.94	86.91	880.85
GEL	3145.20	± 107.10 ^b	5235.82	± 224.29 ^b	3	885.06	84.04	969.10
CON	2385.28	± 132.11 ^b	6519.23	± 572.63 ^b	3	671.22	166.18	837.40
Ammonia excretion	mgNH ₃ h ⁻¹ kg ⁻¹		mgNH ₃ h ⁻¹ kg ⁻¹		TRP	Urut	U _{PP}	U _{tot}
	mgNH ₃ h ⁻¹ kg ⁻¹		mgNH ₃ h ⁻¹ kg ⁻¹					
ALG	271.158	± 41.75 ^a	1089.65	± 237.64 ^b	2	122.89	44.89	167.78
GEL	388.209	± 56.70 ^a	1285.29	± 305.07 ^b	6	143.95	158.86	302.81
CON	264.218	± 112.56 ^a	540.998	± 43.565 ^a	4	108.86	44.58	153.44
O:N								
ALG		11.04		4.85				
GEL		8.60		4.32				
CON		9.58		12.79				

Los pulpos alimentados con ALG se vieron afectados energéticamente por esa dieta, y se obtuvo un valor negativo de P ($P = - 59.8 \text{ KJ Kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$). Por otro lado, pulpos alimentados con GEL y CON registraron valores positivos de P, aunque para los alimentados con GEL, este valor haya sido 18 veces inferior que para los alimentados con calamar. Observando los resultados del balance energético, es notable verificar que los pulpos alimentados con ALG canalizaron 58% de la energía ingerida para R, solo 11% se perdió en heces U; y apenas 4% se invirtió en P.

Los pulpos alimentados con GEL canalizaron 82% para R, 11% para U y 0.9% para P. Por otro lado, pulpos alimentados con calamar canalizaron 77% para R, 17% para U y 24% para P.

La humedad de las 3 dietas (Tabla 3) y de la glándula digestiva de los pulpos alimentados con las mismas (Tabla 4) fue significativamente diferente ($P < 0.05$). La dieta control, el calamar (CON) contenía mas agua ($P < 0.05$) que las dietas artificiales. Los pulpos alimentados con las dietas artificiales tenían cantidades similares de agua en la GD ($p > 0.05$), que eran mayores que las encontradas en la GD de pulpos alimentados con calamar (Tabla 4). La humedad del manto de los pulpos fue similar ($P > 0.05$) para las 3 dietas (Tabla 3).

El contenido total en lípidos de la GD fue similar ($p > 0.05$) para los pulpos alimentados con las 3 dietas. La composición en ácidos grasos (AG) de la GD se encuentra representada en % de AG (Tabla 3) y valor absoluto ($\text{g kg}^{-1} \text{ dw}$ o $\mu\text{g mg}^{-1}$) (Tabla 4). Las concentraciones de saturados y monoeno en el manto de individuos alimentados con CON y GEL fue similar ($P > 0.05$), y más altas ($P < 0.05$) que con ALG (Tabla 4), aún que en % de AG no se encontraron diferencias entre dietas. Para los monoeno, solo los alimentados con ALG su importancia fue menor (Tabla 3). Los ácidos grasos saturados y monoeno más importantes fueron el 16:0 y el 20:1 n-9, respectivamente (Tablas 3 y 4), siendo menores en la GD de pulpos alimentados con ALG.

Los n-3 HUFA más importantes fueron el DHA y el EPA, sin diferencias entre las 3 dietas ($P > 0.05$) (Tablas 3 y 4). Las series n-3 representaron más de 1/3 in porcentaje del total de AG (Tabla 3).

El n-6 más abundante fue el ácido araquidónico (20:4 n-6, ARA) para todas las dietas, siendo su concentración más elevada ($P < 0.05$) en la GD de animales alimentados con ALG en % de AG

(Tabla 3), no existiendo diferencias en contenido total (Tabla 4). El ratio entre DHA/EPA fue superior ($P < 0.05$) para los alimentados con ALG, mientras los ratios EPA/ARA y DHA/ARA ratios fueron mayores ($P < 0.05$) en la GD de los pulpos alimentados con CON (Tabla 3).

En relación al manto, los resultados se presentan tanto en % de AG (Tabla 5) y contenido total (g kg^{-1} dw o $\mu\text{g mg}^{-1}$ ps) (Tabla 6). El contenido en lípido total (g kg^{-1} ps) para animales alimentados con CON fue mayor ($P < 0.05$) que para los alimentados con las dietas artificiales, siendo que entre estas no hubo diferencias ($P > 0.05$) (Tabla 5). Las concentraciones de la mayoría de los AG fue más elevada en los pulpos alimentados con el calamar respecto a las dietas artificiales (Tabla 6).

Tabla 3 – Humedad de las dietas (g kg^{-1} ph), y del manto (g kg^{-1} ph), lípidos totales (g kg^{-1} ps), y % de AG en el manto de pulpos alimentados con calamar (CON) y dos dietas artificiales (GEL, ALG).

Composición dieta	CON	GEL	ALG
Humedad dieta	805 ± 19 a	584 ± 21 b	499 ± 16 c
Humedad manto	786 ± 25	802 ± 20	816 ± 25
Lípidos totales manto	52 ± 6	46 ± 7	41 ± 6
14:0	1.87 ± 0.38 a	1.45 ± 0.43 ab	1.06 ± 0.06 b
15:0	0.43 ± 0.01	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.10
UK 1	1.64 ± 0.11 a	1.45 ± 0.16 ab	1.36 ± 0.12 b
16:0	23.88 ± 3.31 a	21.84 ± 0.55 ab	19.58 ± 1.91 b
16:1 n-7	1.18 ± 0.11	1.39 ± 0.34	0.94 ± 0.21
16:1 n-5	0.32 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.31 ± 0.05
17:0	1.12 ± 0.08 a	1.41 ± 0.14 ab	1.46 ± 0.17 b
16:4	3.40 ± 0.42 a	5.02 ± 0.64 b	5.43 ± 0.61 b
18:0	7.19 ± 0.88	8.98 ± 1.57	9.07 ± 0.58
18:1 n-9	2.77 ± 0.36 ab	3.07 ± 0.59 a	2.16 ± 0.30 b
18:1 n-7	1.74 ± 0.16	1.77 ± 0.22	1.42 ± 0.18
18:2 n-6	0.46 ± 0.01	0.47 ± 0.08	0.49 ± 0.18
20:1 n-9	3.55 ± 0.31 a	3.42 ± 0.27 a	2.82 ± 0.16 b
20:2 n-6	0.41 ± 0.03	0.36 ± 0.04	0.37 ± 0.07
20:4 n-6	2.97 ± 0.90 a	4.47 ± 1.31 ab	6.17 ± 1.06 b
20:4 n-3	0.19 ± 0.03 a	0.13 ± 0.04 ab	0.11 ± 0.03 b
20:5 n-3	15.65 ± 1.25	13.32 ± 0.90	13.95 ± 2.08
22:1 n-11	0.12 ± 0.01 ab	0.35 ± 0.16 a	0.06 ± 0.05 b
22:1 n-9	1.45 ± 0.26	1.81 ± 0.23	1.57 ± 0.23
22:5 n-3	0.86 ± 0.08 a	0.89 ± 0.07 a	1.08 ± 0.12 b
22:6 n-3	21.77 ± 2.38	18.43 ± 1.55	21.65 ± 2.15
UK	3.66 ± 0.54	5.01 ± 0.94	4.83 ± 1.18
Totales			
Saturados	34.60 ± 3.96	34.21 ± 1.27	31.74 ± 2.09
Monoenos	12.13 ± 1.03 ab	13.14 ± 1.63 a	10.28 ± 0.93 b
PUFA	44.57 ± 4.42	41.17 ± 2.51	46.36 ± 3.80

n-3	39.54 ± 3.51	33.85 ± 2.31	37.75 ± 4.24
n-6	4.40 ± 1.06 a	6.37 ± 1.16 ab	7.98 ± 1.12 b
n-9	7.77 ± 0.79 a	8.30 ± 0.78 a	6.54 ± 0.30 b
n-3 HUFA	38.68 ± 3.56	33.08 ± 2.36	37.10 ± 4.24
n-3/n-6	9.25 ± 1.68 a	5.43 ± 0.94 b	4.84 ± 1.20 b
DHA/EPA	1.39 ± 0.10 ab	1.38 ± 0.07 a	1.54 ± 0.09 b
EPA/ARA	5.56 ± 1.40 a	3.15 ± 0.80 b	2.34 ± 0.68 b
DHA/ARA	7.73 ± 1.95 a	4.34 ± 1.11 b	3.62 ± 0.89 b
Mon/n-3 H	0.32 ± 0.05 ab	0.40 ± 0.07 a	0.28 ± 0.05 b
Mon/PUFA	0.28 ± 0.05 ab	0.32 ± 0.06 a	0.22 ± 0.04 b
Mon/Sat	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.05	0.32 ± 0.02
18:1n-9/n3 HUFA	0.07 ± 0.01 ab	0.09 ± 0.02 a	0.06 ± 0.01 b

Tabla 4 – AG de lípidos totales ($\mu\text{g mg}^{-1}$ ps) en el manto de pulpos alimentados con calamar (CON) y dos dietas artificiales (GEL, ALG).

Composición dieta	CON	GEL	ALG
14:0	0.39 \pm 0.13 a	0.26 \pm 0.07 ab	0.15 \pm 0.03 b
15:0	0.09 \pm 0.01 a	0.07 \pm 0.01 b	0.05 \pm 0.01 b
UK 1	0.33 \pm 0.03 a	0.26 \pm 0.02 ab	0.20 \pm 0.06 b
16:0	4.87 \pm 0.70 a	3.96 \pm 0.53 a	2.77 \pm 0.38 b
16:1 n-7	0.24 \pm 0.06 a	0.25 \pm 0.05 a	0.13 \pm 0.01 b
16:1 n-5	0.07 \pm 0.01 a	0.05 \pm 0.00 b	0.04 \pm 0.01 b
17:0	0.23 \pm 0.02	0.26 \pm 0.04	0.21 \pm 0.02
16:4	0.69 \pm 0.04	0.91 \pm 0.16	0.78 \pm 0.22
18:0	1.46 \pm 0.04	1.63 \pm 0.36	1.31 \pm 0.33
18:1 n-9	0.57 \pm 0.14 a	0.55 \pm 0.07 a	0.30 \pm 0.04 b
18:1 n-7	0.36 \pm 0.07 a	0.32 \pm 0.04 a	0.20 \pm 0.03 b
18:2 n-6	0.10 \pm 0.02 a	0.08 \pm 0.00 ab	0.07 \pm 0.02 b
20:1 n-9	0.73 \pm 0.16 a	0.62 \pm 0.07 a	0.40 \pm 0.07 b
20:2 n-6	0.08 \pm 0.02 a	0.07 \pm 0.01 ab	0.05 \pm 0.00 b
20:4 n-6	0.61 \pm 0.21	0.82 \pm 0.30	0.89 \pm 0.30
20:4 n-3	0.04 \pm 0.01 a	0.02 \pm 0.01 ab	0.02 \pm 0.01 b
20:5 n-3	3.23 \pm 0.64	2.43 \pm 0.47	2.04 \pm 0.67
22:1 n-11	0.02 \pm 0.01 a	0.06 \pm 0.02 b	0.00 \pm 0.01 a
22:1 n-9	0.29 \pm 0.04	0.33 \pm 0.05	0.23 \pm 0.08
22:5 n-3	0.18 \pm 0.04	0.16 \pm 0.04	0.16 \pm 0.05
22:6 n-3	4.52 \pm 1.20	3.38 \pm 0.75	3.15 \pm 0.92
UK	0.76 \pm 0.14	0.91 \pm 0.20	0.67 \pm 0.12
Totales			
Saturados	7.06 \pm 0.88 a	6.20 \pm 0.78 a	4.52 \pm 0.75 b
Monoenos	2.50 \pm 0.51 a	2.36 \pm 0.21 a	1.45 \pm 0.18 b
PUFA	9.22 \pm 2.20	7.53 \pm 1.50	6.74 \pm 1.92
n-3	8.18 \pm 1.94	6.19 \pm 1.27	5.50 \pm 1.66
n-6	0.91 \pm 0.26	1.16 \pm 0.31	1.15 \pm 0.34
n-9	1.60 \pm 0.32 a	1.49 \pm 0.11 a	0.93 \pm 0.16 b
n-3 HUFA	8.01 \pm 1.90	6.07 \pm 1.26	5.40 \pm 1.64

Tabla 5 – Humedad de la GD (g kg^{-1} ph), lípidos totales (g kg^{-1} ps), y % de AG en la GD de pulpos alimentados con calamar (CON) y dos dietas artificiales (GEL, ALG).

Composición dieta	CON	GEL	ALG
Humedad GD	667 ± 12 a	746 ± 23 b	757 ± 21 b
Lípidos totales GD	365 ± 67 a	129 ± 21 b	97 ± 22 b
14:0	3.87 ± 0.11 a	3.77 ± 0.74 a	1.64 ± 0.34 b
15:0	0.58 ± 0.03 a	0.73 ± 0.10 b	0.35 ± 0.05 c
UK 1	0.73 ± 0.12 a	1.00 ± 0.34 ab	1.27 ± 0.13 b
16:0	20.71 ± 0.56 a	18.83 ± 0.84 b	19.72 ± 0.61 ab
16:1 n-7	2.06 ± 0.15 a	4.75 ± 0.53 b	1.92 ± 0.36 a
16:1 n-5	0.32 ± 0.02 a	0.38 ± 0.04 a	0.24 ± 0.03 b
17:0	0.58 ± 0.04 a	0.89 ± 0.11 b	1.02 ± 0.07 b
16:4	0.59 ± 0.05 a	1.55 ± 0.34 b	3.49 ± 0.79 c
18:0	3.89 ± 0.26 a	6.43 ± 0.62 b	10.77 ± 1.24 c
18:1 n-9	3.99 ± 0.24 a	6.89 ± 0.79 b	3.95 ± 0.89 a
18:1 n-7	2.36 ± 0.13 a	2.61 ± 0.10 a	1.92 ± 0.23 b
18:2 n-6	0.46 ± 0.02 a	0.92 ± 0.09 b	0.54 ± 0.01 a
20:1 n-9	4.94 ± 0.39	5.18 ± 2.54	2.70 ± 0.26
20:2 n-6	0.56 ± 0.02 a	0.42 ± 0.10 b	0.33 ± 0.02 b
20:4 n-6	1.49 ± 0.07 a	2.43 ± 0.30 b	5.12 ± 0.52 c
20:4 n-3	0.31 ± 0.02 ab	0.43 ± 0.10 a	0.17 ± 0.07 b
20:5 n-3	14.64 ± 0.25 a	9.79 ± 1.74 b	11.15 ± 1.41 b
22:1 n-11	0.31 ± 0.08	2.61 ± 2.57	0.64 ± 0.07
22:1 n-9	0.94 ± 0.07	1.13 ± 0.36	1.10 ± 0.11
22:5 n-3	0.62 ± 0.02 a	1.03 ± 0.19 b	1.00 ± 0.11 b
22:6 n-3	29.10 ± 1.25 a	18.09 ± 4.50 b	23.18 ± 1.76 ab
UK	2.69 ± 0.28 a	5.47 ± 1.75 b	3.81 ± 1.63 ab
Totales			
Saturados	29.71 ± 0.90 a	30.76 ± 0.79 a	33.70 ± 0.41 b
Monoenos	15.93 ± 0.67 a	24.79 ± 6.00 b	13.29 ± 0.33 a
PUFA	50.34 ± 1.69 a	36.42 ± 7.43 b	44.46 ± 2.60 ab
n-3	46.42 ± 1.53 a	30.56 ± 6.71 b	36.45 ± 3.42 b
n-6	2.84 ± 0.15 a	4.28 ± 0.56 b	6.49 ± 0.46 c
n-9	9.88 ± 0.63 ab	13.20 ± 3.61 a	7.75 ± 0.53 b
n-3 HUFA	44.84 ± 1.41 a	29.46 ± 6.53 b	35.62 ± 3.40 ab
n-3/n-6	16.35 ± 0.40 a	7.08 ± 0.91 b	5.66 ± 0.90 b
DHA/EPA	1.99 ± 0.06	1.83 ± 0.16	2.09 ± 0.12
EPA/ARA	9.85 ± 0.32 a	4.02 ± 0.45 b	2.21 ± 0.47 c
DHA/ARA	19.58 ± 0.09 a	7.38 ± 1.37 b	4.58 ± 0.77 c
Mon/n-3 H	0.36 ± 0.03	0.92 ± 0.51	0.37 ± 0.03
Mon/PUFA	0.32 ± 0.02	0.74 ± 0.39	0.30 ± 0.01
Mon/Sat	0.54 ± 0.01 a	0.81 ± 0.21 b	0.39 ± 0.01 a
18:1n-9/n3 HUFA	0.09 ± 0.01 a	0.25 ± 0.10 b	0.11 ± 0.02 a

Tabla 6 – AG de lípidos totales ($\mu\text{g mg}^{-1}$ ps) en la GD de pulpos alimentados con calamar (CON) y dos dietas artificiales (GEL, ALG).

Diet composition	CON	GEL	ALG
14:0	9.55 ± 1.89 a	2.57 ± 0.97 b	0.53 ± 0.22 b
15:0	1.42 ± 0.25 a	0.47 ± 0.12 b	0.11 ± 0.02 b
UK 1	1.76 ± 0.09 a	0.62 ± 0.15 b	0.39 ± 0.08 b
16:0	50.93 ± 8.86 a	12.50 ± 3.51 b	6.24 ± 1.75 b
16:1 n-7	5.14 ± 1.39 a	3.18 ± 1.02 a	0.62 ± 0.25 b
16:1 n-5	0.79 ± 0.16 a	0.25 ± 0.07 b	0.07 ± 0.01 b
17:0	1.42 ± 0.18 a	0.58 ± 0.13 b	0.32 ± 0.09 b
16:4	1.43 ± 0.17 a	0.98 ± 0.11 b	1.06 ± 0.07 b
18:0	9.52 ± 1.44 a	4.18 ± 0.88 b	3.32 ± 0.53 b
18:1 n-9	9.82 ± 1.77 a	4.45 ± 0.83 b	1.29 ± 0.55 c
18:1 n-7	5.80 ± 1.01 a	1.72 ± 0.42 b	0.59 ± 0.09 b
18:2 n-6	1.16 ± 0.24 a	0.62 ± 0.19 b	0.17 ± 0.05 c
20:1 n-9	12.08 ± 1.67 a	3.10 ± 0.43 b	0.84 ± 0.15 b
20:2 n-6	1.39 ± 0.33 a	0.29 ± 0.12 b	0.10 ± 0.02 b
20:4 n-6	3.69 ± 0.88 a	1.64 ± 0.58 b	1.59 ± 0.27 b
20:4 n-3	0.76 ± 0.12 a	0.30 ± 0.12 b	0.06 ± 0.03 c
20:5 n-3	36.22 ± 7.81 a	6.69 ± 2.56 b	3.58 ± 1.27 b
22:1 n-11	0.74 ± 0.17 ab	1.40 ± 0.83 a	0.20 ± 0.07 b
22:1 n-9	2.31 ± 0.42 a	0.70 ± 0.06 b	0.34 ± 0.06 b
22:5 n-3	1.54 ± 0.27 a	0.70 ± 0.27 b	0.32 ± 0.10 b
22:6 n-3	72.24 ± 17.10 a	12.50 ± 5.43 b	7.39 ± 2.32 b
UK	6.76 ± 1.26 a	3.52 ± 1.07 b	1.12 ± 0.14 c
Totales			
Saturados	73.07 ± 12.63 a	20.38 ± 5.51 b	10.59 ± 2.61 b
Monoenos	39.15 ± 6.69 a	15.60 ± 1.29 b	4.20 ± 1.15 c
PUFA	124.87 ± 28.68 a	25.00 ± 10.03 b	14.13 ± 4.26 b
n-3	115.13 ± 26.39 a	21.02 ± 8.66 b	11.65 ± 3.83 b
n-6	7.07 ± 1.71 a	2.91 ± 1.03 b	2.02 ± 0.40 b
n-9	24.21 ± 3.83 a	8.26 ± 0.53 b	2.47 ± 0.76 c
n-3 HUFA	111.16 ± 25.29 a	20.27 ± 8.40 b	11.39 ± 3.75 b

Concentraciones más elevadas de n-3 HUFA ($p < 0.05$) se encontraron en el manto de pulpos alimentados con CON (Tablas 5 y 6), y esto se puede explicar por las mayores concentraciones de DHA y EPA. Los n-3 HUFA más importantes fueron el DHA y el EPA (Tablas 5 y 6), representando las series n-3 la mitad del % de AG en el manto de pulpos alimentados con calamar y apenas cerca de 1/3 en los alimentados con las dietas artificiales (Tabla 5).

La serie n-6 se encontró en mayor concentración ($P < 0.05$) (Tabla 5) en el manto de animales alimentados con las dietas artificiales; el n-6 más importante fue el ácido araquidónico (ARA) para todas las dietas, siendo más elevadas para los alimentados con calamar (Tabla 6) aún que en % de AG fuera más importante para ALG (Tabla 5).

El ratio DHA/EPA fue similar en el manto para todas las dietas ($p > 0.05$). Contrariamente, Contrary, los ratios EPA/ARA y DHA/ARA fueron más altos ($P < 0.05$) cuando alimentados con el calamar (Tabla 5).

Discusión

Como en estudios anteriores, las dietas artificiales no han proporcionado crecimiento adecuado, con tasas de crecimiento pequeñas o negativas ($0.2 \% d^{-1}$ y $-0.2 \% d^{-1}$ para GEL y ALG, respectivamente). Aún así, la gelatina parece ser un aglutinante más adecuado que el alginato. El menor crecimiento con las dietas artificiales se reflejó en el balance energético y composición en ácidos grasos., con los grupos más importantes como n-3 HUFA, y AG importantes como EPA y DHA con menores concentraciones en las GD de animales alimentados con las dietas artificiales. Este hecho confirma que la GD es un órgano adecuado para estudiar el efecto de las distintas dietas en la composición lipídica y condición de *Octopus vulgaris*. Por otro lado, el manto ha mantenido su composición lipídica mismo en pulpos que perdieron peso, lo que indica que probablemente son las proteínas que son usadas como sustrato energético por estos animales en condiciones de ayuno o de alimento insuficiente.

2.3.1.4. Efecto de dietas artificiales, con y sin atrayente, sobre el crecimiento del pulpo común, *Octopus vulgaris*.

IFAPA Centro “Agua del Pino”, C.A. de Andalucía.

En este trabajo, juveniles de pulpo fueron alimentados con dietas basadas en bacaladilla cruda con o sin atrayentes (taurina, betaína, etc.), o basadas en una mezcla de mejillón y bacaladilla crudos, también con o sin los mismos atrayentes.

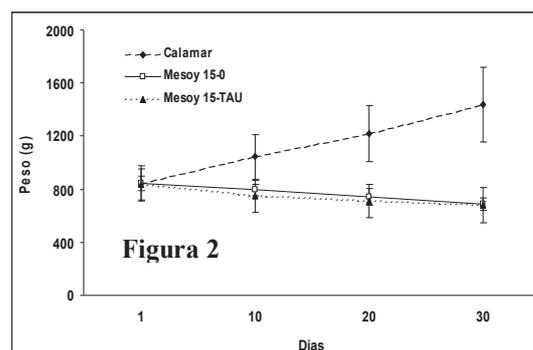
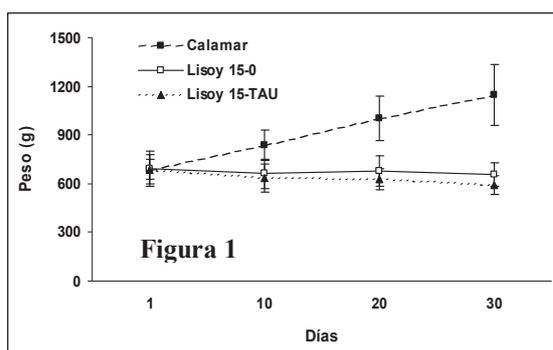
Material y métodos

Los 30 pulpos fueron capturados en las costas de Huelva con nasas, e individualizados en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio, de 140 L de capacidad. Se usó un sistema abierto, con flujo de 25 Lh⁻¹. Los pulpos fueron alimentados una vez al día (09:00 h), con 7% de su peso d⁻¹. El alimento permanecía en el agua 4 horas y después era retirado y pesado. Cada experimento duró 30 días. Todos los pulpos fueron pesados individualmente cada 10 días. En el experimento I se utilizaron una dieta control, calamar congelado (*Loligo gahi*), y dos dietas artificiales basadas en bacaladilla cruda (*Micromesistius poutassou*), una sin atrayentes (Lisoy 15-0) y otra con atrayentes (1% mezcla de taurina, Lisoy 15-TAU). El peso inicial de los pulpos era de 687,3±88,1 g, 692,2±110,9 g y 687,2±87,0 g para animales alimentados con calamar, Lisoy 15-0 y Lisoy 15-TAU, respectivamente, sin diferencias significativas (p>0,05). En el experimento II, las 3 dietas fueron calamar como control, y dos dietas artificiales basadas en mejillón (*Mytilus edulis*) y bacaladilla crudos, siendo una sin atrayentes (Mesoy 15-0) y la otra con atrayentes (Mesoy 15-TAU). El peso inicial de los pulpos era de 843,5±129,6 g, 846,0±54,5 g y 837,7±110,5 g para animales alimentados con calamar, Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU, respectivamente, sin diferencias significativas (p>0,05). Las dietas artificiales fueron elaboradas en la Universidad de Santiago de Compostela. La bacaladilla y mejillón fresco se picaron usando un tamiz de 0,5 cm de diámetro de poro. Los aditivos (proteína de soja) y productos químicos (taurina, betaina y colesterol) se incorporaron a esta masa, homogeneizándola posteriormente. La masa resultante se envasó al vacío, dejándola reposar 24 h a 2° C para facilitar la cohesión de la materia prima con el estabilizante. Posteriormente se congelaron y se mantuvieron a -24° C hasta la alimentación de los pulpos.

Resultados

Durante el experimento I, los pulpos alimentados con el control apenas presentaron crecimiento positivo (1.7 ± 0.7 % peso d⁻¹), mientras los alimentados con Lisoy 15-0 y Lisoy 15-TAU perdieron peso, aunque no significativamente (-0.2 ± 0.3 % peso d⁻¹ y -0.5 ± 0.5 % peso d⁻¹, respectivamente) (Figura 1). Las tasas de ingestión fueron más elevadas con calamar (4.6 ± 0.8 % peso d⁻¹), mientras que no se encontraron diferencias entre tasas de ingestión con Lisoy 15-0 y Lisoy 15-TAU (1.7 ± 0.5 y 1.6 ± 0.4 % peso d⁻¹, respectivamente). Durante el experimento II, y al igual que en el caso anterior, sólo los pulpos alimentados con la dieta control presentaron crecimiento positivo (1.8 ± 0.4 % peso d⁻¹), mientras los alimentados con Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU perdieron peso, aunque no significativamente (-0.7 ± 0.3 % peso d⁻¹ y -0.7 ± 0.2 % peso d⁻¹,

respectivamente) (Figura 2). Las tasas de ingestión fueron más elevadas con calamar (4.7 ± 0.6 % peso d^{-1}) y similares a las obtenidas en el experimento I, mientras que no se encontraron diferencias entre tasas de ingestión de Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU (1.4 ± 0.2 y 1.4 ± 0.3 % peso d^{-1} , respectivamente). La inclusión de taurina y otras sustancias como atrayentes en las dietas Lisoy 15-TAU y Mesoy 15-TAU de ambos experimentos, no incrementó la ingestión ni el crecimiento de los pulpos.



Discusión

La capacidad atrayente de las dietas usadas en estos experimentos fue bastante baja, incluso con el derivado del aminoácido cisteína, la taurina (normalmente utilizada como atrayente en dietas preparadas), que fue incorporada en una de las dietas artificiales de cada experimento. Estas tasas de crecimiento negativas son significativamente menores que las obtenidas por Quintana *et al.*, (2008), cercanas al 1% peso día⁻¹.

Es posible que una de las causas para las bajas tasas de ingestión obtenidas en este estudio sea debida al uso del aglutinante (proteína de soja) contrariamente a la gelatina (aglutinante de origen proteico animal) usada en los trabajos referidos anteriormente, pero en cualquier caso, los resultados nos reflejan que es posible una redefinición de los ingredientes de la dieta ya que los valores obtenidos con proteína de soja son más alentadores que los obtenidos con aglutinantes de origen glucídico (López *et al.*, 2008).

Bibliografía

- Christie, W.W. 1982. Lipids analysis, 2nd edition. Oxford: Pergamon Press.
- Condrey, R.E., Gosselink, J.G., Bennet, H.J. 1972. Comparison of the assimilation of different diets by *Penaeus setiferus* and *Penaeus aztecus*. Fish. Bull., 70, 1281-1291.
- Domingues, P., V. Bettencourt y A. Guerra. 2006. Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. Vie et Millieu 56 (2): 109-120.
- Domingues, P., F. DiMarco, J. Andrade y P. Lee. 2005. The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 13 (5): 423-440.

- Horwitz, W. 1980. Methods of analysis, 13th edition. Washington D.C. Association of Official Analytical Chemists.
- López, M., Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Brea, M.D., Pais, R., Rodríguez, C.J., Guerrero, C.. Experiencias de engorde de juveniles de pulpo (*Octopus vulgaris*) con distintos tipos de cebos. 2008 Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. 11: 475-484.
- Lucas, A. 1993. Bioénergétique Des Animaux Aquatiques. Masson, Paris.
- Olsen, RE, Henderson, R.J. 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 129, 189-197.
- Quintana, D., Domingues, P., García, S. 2008. Effects of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. Aquaculture 280: 161-164.

2.3.1.5. Efecto del ayuno sobre el contenido en lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos del manto y glándula digestiva de *Octopus vulgaris*.

IFAPA Centro “Agua del Pino”, C.A. de Andalucía.

Introducción.

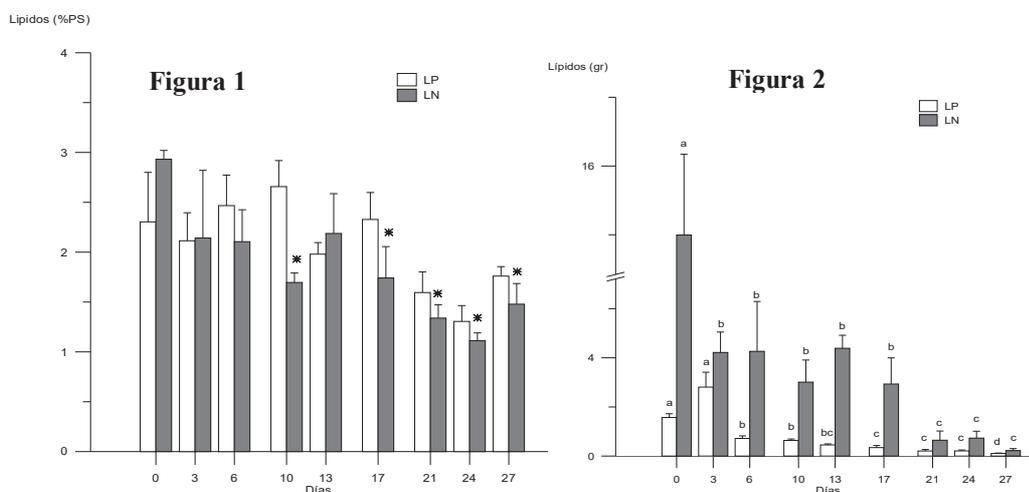
Uno de los principales factores que ha impedido el cultivo de cefalópodos a gran escala es la inexistencia de dietas artificiales que proporcionen buena aceptación y crecimiento (Domingues, 1999; Domingues *et al.*, 2005). La utilización de piensos preparados en sustitución de alimento natural (Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2006) aportaría una reducción de costes de hasta el 80%. En este trabajo, juveniles de pulpo fueron expuestos a un período prolongado de ayuno, para determinar como disminuyen las concentraciones de lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos en el manto y GD. De esta forma, la información obtenida podrá ser importante para determinar cuales son los componentes esenciales o limitantes, y desarrollar alimentos artificiales eficientes para esta especie.

Material y métodos.

Los animales utilizados para el experimento (30 pulpos) fueron capturados en las costas de Huelva por medio de nasas y colocados individualmente en estanques cilindro-cónicos de fibra de vidrio de 140 L de capacidad. Se usó un sistema abierto, con flujo de 25 L h⁻¹. Los animales se mantuvieron en ayuno hasta el final del experimento de 27 días. Los lípidos totales se extrajeron usando cloroformo:metanol (2:1 v/v) con 0,01% del antioxidante butil-hidroxitolueno (BHT) (Christie, 1982). Las clases lipídicas se cuantificaron por combustión incompleta con acetato de cobre (Olsen y Henderson, 1989). Los ácidos grasos se determinaron según Christie (1982).

Resultados.

La composición en lípidos totales para el manto se mantuvo constante durante 21 días. Después la concentración bajó y se mantuvo constante hasta el final del experimento (Figura 1). Para la GD, los lípidos totales disminuyeron significativamente después de 3 días de ayuno, se mantuvo constante hasta 21 días y volvió a bajar hasta el final del experimento (Figura 2). Entre las clases lipídicas de la GD, las principales fueron triglicéridos (TG) y ésteres de esteroles (EE), que disminuyeron después de 3 días de ayuno, manteniéndose después constantes hasta los 17 días. A partir de aquí estas dos clases disminuyeron gradualmente hasta el final del experimento.



También en este órgano la concentración de colesterol (CHO) disminuyó gradualmente durante el experimento. En relación con los lípidos polares (LP), las concentraciones de fosfatidilcolina y fosfatidil-etanolamina aumentaron en los primeros 3 días, y después disminuyeron gradualmente hasta el final del experimento.

En el manto, las únicas clases lipídicas que sufrieron disminución en su concentración fueron los triglicéridos y ésteres de esterol, mientras ninguna de las clases de lípidos polares sufrió disminución en este órgano.

Discusión.

Es destacable que la gran mayoría de los ácidos grasos en la GD disminuyeron tras apenas 3 días de inanición, mientras en el manto éstos se mantuvieron constantes durante el experimento. Los valores se presentan en $g\ GD^{-1}$ para la GD y $\% peso\ seco^{-1}$ para el manto.

El mantenimiento en el manto de LP y CHO podría deberse a su papel estructural. Por el contrario, los TG (que empiezan a disminuir a partir del día 21 de inanición) y los EE parecen tener una función de reserva energética. La estructura estable del manto a nivel lipídico es también corroborada por el mantenimiento de los ácidos grasos en este órgano durante los 27 días de inanición. En relación a la GD, se observa una considerable variabilidad lipídica incluso a corto plazo (3 días), principalmente en LT, TG, EE y todos los ácidos grasos, lo que indica su papel como órgano de reserva energética a corto plazo.

Bibliografía.

- Christie, W.W. 1982. Lipids analysis, 2nd edition. Oxford: Pergamon Press.
- Domingues, P. 1999. Development of alternative diets for the mass culture of the European cuttlefish *Sepia officinalis*. PhD thesis, University of the Algarve, Portugal, 95 p.
- Domingues, P., Bettencourt, V., Guerra, A. 2006. Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie et Millieu* 56(2): 109-120.

- Domingues, P., DiMarco, F., Andrade, J. Lee, P. 2005. The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 13 (5): 423-440.
- Lee, P.G. 1994. Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 25, 35-51.
- Olsen R.E. y R.J. Henderson. 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129(2):189-197.

2.3.2. Experimentos desarrollados en el ICCM.

2.3.2.1. Elección de aglutinantes para la elaboración de un pienso para pulpo: estabilidad y aceptación.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El pulpo es un animal que presenta un tratamiento muy peculiar sobre sus presas, caracterizándose la manipulación del alimento antes de su ingesta. Experiencias previas realizadas sobre la alimentación de cefalópodos han demostrado una gran reticencia a aceptar dietas artificiales, rechazándolas en muchas ocasiones y sobretodo disgregando y desperdiciando la mayoría de la dieta debido a la condiciones de cohesión de la misma (Lee et al., 1991; Domínguez et al., 2007; Estefanell *et al.*, 2007a). Por ello el primer punto de partida para la elaboración de un pienso para este invertebrado debe ser una elección adecuada del aglutinante, que por un lado le de una estabilidad a la dieta, y por otro incida en una aceptación positiva de la misma.

Material y métodos.

Siguiendo el guión establecido en el proyecto, el primer paso fue elaborar un pienso de estabilidad apropiada en agua de una humedad aproximada del 40%. Para ello se evaluaron 3 aglutinantes (Alginato y Goma guar al 0,5, 1, 2, 3 y 5% cada uno, respecto del total de la mezcla de ingredientes, y Gelatina Neutra al 1,3,5,y 7%). Se mezclaron partes iguales de ingredientes húmedos y secos, la parte húmeda constituida por boga de descarte sin restos de espinas (filete sin escamas+vísceras, 75% de humedad), y la parte seca por harina de pescado (7-8% de humedad). Todos estos ingredientes se trituraron de forma independiente hasta obtener un tamaño de partícula muy fino y se mezclaron posteriormente hasta conseguir una apariencia homogénea y sin gránulos. Para ello se utilizó una picadora industrial. El paso siguiente fue agregar el aglutinante con el fin de evitar la disgregación del pienso en el agua. En todos los casos fue necesario añadir un volumen de agua elevado, en concreto del 34% del total del pienso, para facilitar su mezcla con los ingredientes ya mencionados (33% de boga y 33% de harina). El Alginato y la Goma Guar fueron disueltos en agua fría mientras que la Gelatina Neutra necesitó de agua caliente. Al tener el pienso final elaborado de la forma descrita una humedad elevada de 60-65%, superior a la inicial propuesta por el proyecto, fue necesario buscar un método para disminuir su contenido acuoso. Para ello se elaboraron "bolas" de 5-12 g. que fueron desecadas en estufa de aire a 30-35°C durante 8 horas hasta obtener un pienso de 45±2% de humedad. Finalmente se evaluó su estabilidad según el protocolo descrito a continuación.

Prueba de estabilidad del pienso en agua: Se pesaron 10 réplicas de 5 gramos de cada formulación del pienso. Con cinco muestras se calculó la humedad inicial del pienso que sirvió para inferir el peso seco inicial de las otras cinco réplicas que fueron sumergidas durante 24 horas en agua de mar en condiciones idénticas de temperatura y salinidad a las de los tanques experimentales. Tras calcular el peso seco de estas últimas réplicas se calculó el porcentaje de disgregación o de pérdida de materia seca (PMS) (Tabla I) según: $PMS = 100 * (PSa - PSd) / PSa$,

donde PSa y PSd son el peso en materia seca antes (inferido) y después de la inmersión, respectivamente.

Del grupo que estadísticamente presentó la disgregación más baja se seleccionó el menor % de cada aglutinante, seleccionándose el 2% de Alginato, el 2% de Goma guar y el 7% de gelatina neutra, y con ellos se realizó una prueba de aceptación.

Tabla I: Humedad tras desecación y Porcentaje de disgregación tras 24 horas en agua.

Aglutinante	%	Humedad tras 8h estufa 33°C	Disgregación (%)
Alginato	0,5%	46,2 ± 0,6 ^b	8,5 ± 0,6 ^a
	1%	47,2 ± 0,3 ^b	8,7 ± 0,5 ^a
	2%	49,6 ± 0,9 ^a	5,8 ± 0,3 ^{bc}
	3%	47,4 ± 0,1 ^b	5,9 ± 0,45 ^b
	5%	46,5 ± 0,6 ^b	5,23 ± 0,3 ^c
Goma guar	0,5%	43,4 ± 0,6 ^b	8,9 ± 0,6 ^a
	1%	44,3 ± 1,3 ^{ab}	9,0 ± 0,5 ^a
	2%	42,6 ± 0,9 ^b	8,3 ± 0,3 ^b
	3%	46,8 ± 1,8 ^a	8,2 ± 0,5 ^b
	5%	45,1 ± 1,2 ^{ab}	8,2 ± 0,3 ^b
Gelatina neutra	1%	47,4 ± 0,9 ^a	5,83 ± 0,5 ^a
	3%	47,5 ± 0,5 ^a	4,4 ± 0,5 ^b
	5%	42,7 ± 0,3 ^b	4,2 ± 0,5 ^b
	7%	42,0 ± 0,4 ^b	2,9 ± 0,5 ^c

Prueba de aceptabilidad: Para la realización de pruebas de aceptación de los pienso diseñados se capturaron ejemplares de pulpo procedentes del medio natural, que se estabularon en tanques rectangulares de 1.5 m³ de capacidad mantenidos en circuito abierto con temperaturas de 20±1°C y niveles de oxígeno de 6-7 ppm (superiores al 80 % de saturación según Cerezo & García García, 2005). Después de la aclimatación de los animales y la comprobación de que aceptaban e ingerían de forma regular las dietas naturales comúnmente empleadas, como cangrejo y boga (Aguado & García García, 2003; García García & Cerezo Valverde, 2006), se procedió a la realización de las pruebas de aceptación del pienso. Por un lado de forma individual en 6 acuarios de 150l (1 ejemplar/acuario) y por otro de forma colectiva en tanques de 1500 litros (6 animales/tanque), mantenidos en circuito abierto. El peso medio inicial de los ejemplares y los parámetros físicos se describen en la tabla II. Los ejemplares mantenidos individualmente fueron aclimatados a los acuarios durante un período de 2-7 días hasta observar que efectivamente ingerían la dieta control de boga y cangrejo. Las dietas experimentales se suministraron durante un período de 6-7 días, valorándose la aceptación de forma cualitativa según la escala: Nula (No capturan la dieta); Sólo visual (Capturan la dieta pero la sueltan nada más probarla); Sub-óptima (Capturan la dieta pero al intentar ingerirla la disgregan, sin generar heces o en muy poca cantidad); Óptima (Capturan e ingieren la dieta sin disgregarla y generando heces). Los resultados de aceptación, crecimiento y supervivencia, así como la formación de heces, se describen en la tabla II.

Resultados y Discusión.

El experimento de disgregación nos permitió comparar 3 aglutinantes distintos siendo la gelatina neutra y el alginato significativamente más apropiados para aglutinar que la goma guar. Sin embargo tras permanecer en agua 24 horas tan solo el alginato mantiene la textura compacta similar a la que tenía inicialmente.

Las pruebas de aceptación en los acuarios dieron resultados muy pobres, probablemente motivado por el estrés del animal a un confinamiento tan estricto o bien por el paso de gente por la zona de los acuarios. Por este motivo realizamos pruebas paralela de aceptación con el mismo pienso experimental en tanques colectivos, siendo la aceptación visual y subóptima mucho mayor en estos últimos. En cualquier caso el crecimiento fue casi siempre nulo o negativo durante las experiencias, constatando incluso mortalidad en algunos casos.

En las figuras 1, 2 y 3 se desglosan diariamente el porcentaje de cada tipo de aceptación a lo largo de cada experimento individual.

Como conclusión, la línea de trabajo con pienso utilizará el Alginato como aglutinante principal, continuando en este momento la línea de actuación en la elaboración de una adecuada formulación, y la búsqueda de un atractante en la elaboración de un pienso para pulpo *Octopus vulgaris*.

Tabla II: Parámetros físicos, Peso medio inicial, Aceptación, Incremento Peso, Mortalidad y Formación de Heces durante el experimento de aceptación.

	Gelatina 7%		Alginato 2%		Goma Guar 2%	
	Individual	Colectivo	Individual	Colectivo	Individual	Colectivo
T (°C)	20,5	20,8	19,5	19,7	19,1	19,3
O2 (ppm)	6,8	6,7	6,8	6,9	6,8	6,8
Peso inicial (g.)	1503±129	1688± 25	2003±152	1412±286	1884±567	2483±144
Gramos añad. / pulpo/día	60,9	43,1	29,6	43,1	33,8	67
Nº bolas / pulpo/día	5,1	3,9	4	3,9	4,5	7,5
Peso bolas (g.)	12,1	11,1	7,9	11,1	7,5	8,9
Incremento peso / pulpo (g.)	-147 ± 49	-8	-78 ± 28	-10	-10 ± 42	40
Supervivencia (%)	100	100	100	83	66,6	100
Aceptación Nula-Visual-Subóptima (%)	50-20-30	0-0-100	17-52-31	0-76-24	27-17-57	0-0-100
Formación heces	Mínima	Baja	Mínima	Mínima	Mínima	Baja

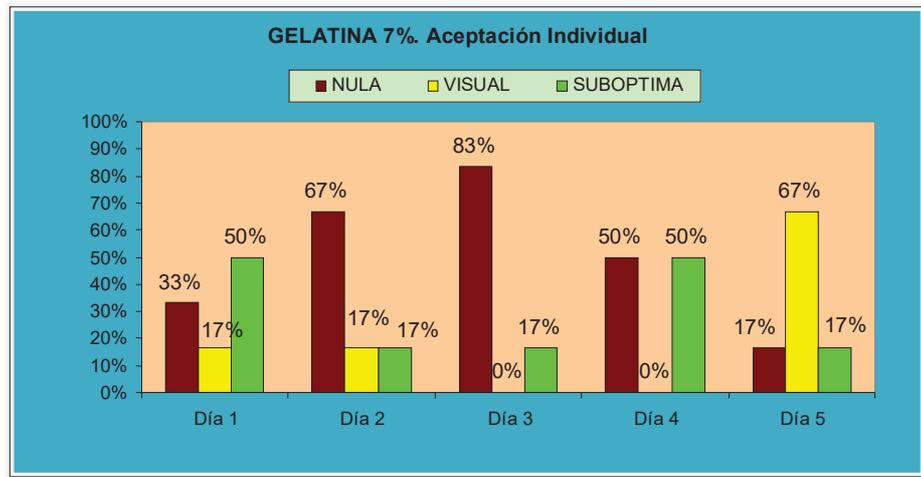


Fig. 1: Porcentaje diario de Aceptación Nula-Visual-Subóptima con Gelatina 7%

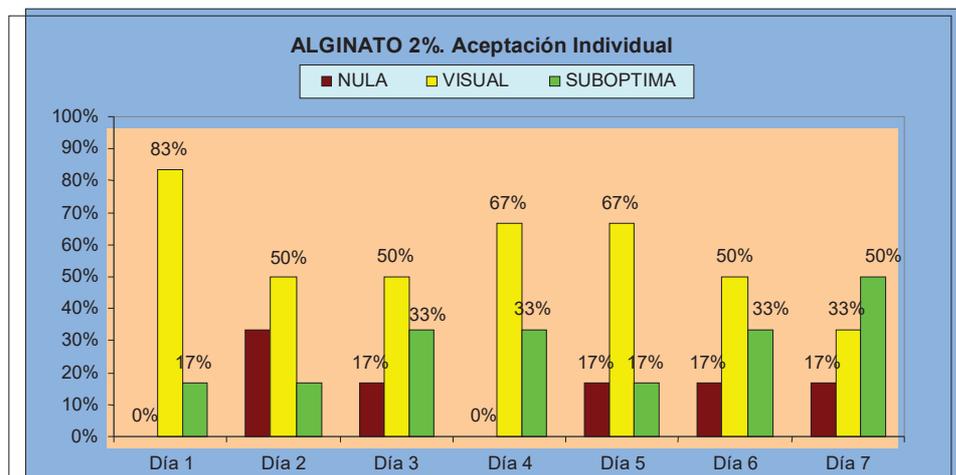


Fig. 2: Porcentaje diario de Aceptación Nula-Visual-Subóptima con Alginato 2%

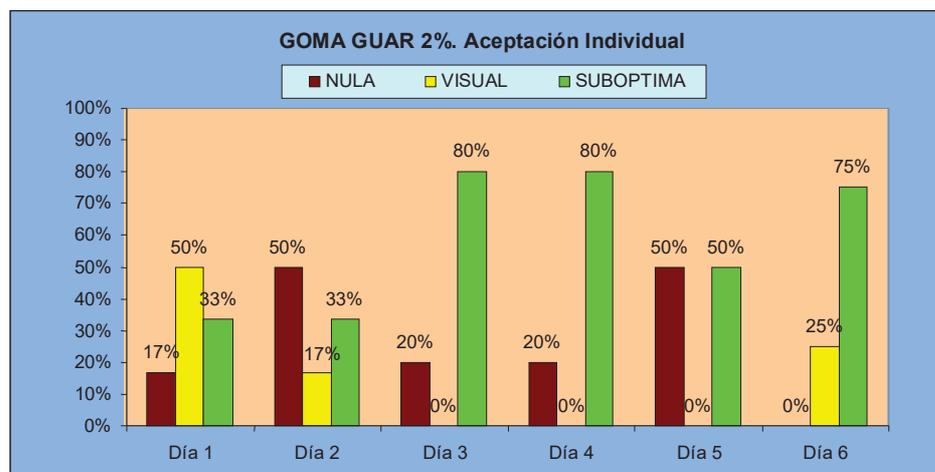


Fig. 3: Porcentaje diario de Aceptación Nula-Visual-Subóptima con G. Guar 2%

2.3.2.2. Adición de calcio y aglutinantes comerciales.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

A partir de las conclusiones del 1er año de proyecto se intentó mejorar la consistencia de la mezcla de 33-33-34% de boga descarté (filetes y vísceras), harina y agua aglutinada con un 2% de alginato.

Material y método.

Para ello se incluyó un 0,5-1-2% de calcio en forma de Ca Cl_2 y se evaluó su efecto sobre 2 concentraciones de alginato (1 y 2%) comparadas con la mejor mezcla previa (2% de alginato). Seguidamente se procedió a evaluar la disgregación del modo ya descrito en el informe del 1er año.

Resultados y discusión.

Los resultados se recogen en la tabla I y se observa que la adición de calcio no mejora la disgregación de la mezcla.

Tabla I: Receta de aglutinantes del pienso y % de disgregación.

Alginato	Ca Cl ₂	Disgregación (%)
2%	-	4,6 ± 0,4 ^a
1%	0,5%	6,2 ± 0,5 ^c
	1%	5,2 ± 0,3 ^{ab}
	2%	5,9 ± 0,4 ^{bc}
2%	0,5%	5,2 ± 0,4 ^a
	1%	5,2 ± 0,4 ^a
	2%	5,2 ± 0,3 ^{ab}

De los resultados de Cerezo *et al.* (2008) y con la colaboración de los autores se adaptó este protocolo establecido por los mismos a las características de las materias primas empleadas en nuestros ensayos. Se mantuvo el aglutinante comercial Pokel Merl (Gelificante E-401, sal, emulgente E-451, azúcares (dextrosa) y conservantes E- 301 y E- 224) y Pokel Cals (E-516) (Productos del Sur, S. A., Murcia). De este modo se estableció un protocolo de elaboración de pienso preparando 2 volúmenes de agua separadamente, uno con un 2% de pokel merl y otro con un 1% de pokel cals respecto al total de pienso a preparar. La cantidad de agua se ajusta teniendo en cuenta la humedad de las materias primas para obtener un pienso de 80% de humedad.

2.3.2.3. Optimización del espacio y elección del sistema de cultivo individual.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

Para optimizar el espacio disponible y reducir el estrés observado en los animales mantenidos en acuarios se puso a punto un sistema de engorde en compartimentos individuales dentro de un tanque común. El empleo de un cultivo individual permitirá asegurar la ingesta de cada animal, logrando asegurar la veracidad de los parámetros fisiológicos adquiridos. Por otro lado el empleo de acuarios o urnas de cristal pueden proporcionar al animal un estrés mayor, por el simple hecho de sentirse desprotegido ante la visión exterior.

Material y método.

Para ellos se realizó una experiencia en paralelo comparando el uso de acuarios frente a los compartimentos, manteniendo volúmenes y renovaciones similares. La dieta suministrada fue un 60-40% de boga descartado-cangrejo troceado en días alternos. De este modo se utilizaron tanques rectangulares divididos en 4 compartimentados con malla negra de PVC y 2 cm de luz. El sistema de cultivo se evaluó con 4 pulpos machos. Se calcularon los siguientes parámetros: incremento de peso diario ($IPD=(P_f-P_i)/t$), ingesta diaria estándar ($IDE=AI*100/(t*(P_f-P_i))$), índice de conversión ($IC=AI/(P_f-P_i)$), donde “ P_f ” es peso final, “ P_i ” es peso inicial, “ t ” es nº de días y “ AI ” es alimento ingerido en g.

Resultados y discusión.

La supervivencia a las 4 semanas fue del 100%. Los valores de incremento de peso e ingesta quedan expuesto en la tabla I, no encontrándose diferencias significativas entre la ingesta diaria en los dos sistemas de cultivo, mientras que si se observaron diferencias significativas positiva en el sistema de cultivo por compartimento individualizados frente a los acuarios. La justificación de esta diferencia puede radicar en el comportamiento territorial y de competitividad que presentan los animales en un tanque común, pero aislado, donde la visión de sus competidores incita a un instinto natural de supervivencia y crecimiento. Como consecuencia y tras estos valores se puede considerar el cultivo en compartimento más adecuado frente a urnas individuales y con frontal de cristal.

Tabla I: Resultados obtenidos tras 4 semanas de engorde en acuarios y compartimentos.

	Compartimentos	Acuarios
Peso inicial (g.)	1449±128	1381±594
Peso final (g.)	2269±350	1918±629
IDE (%/día)	4,5±0,6	4,3±1,7
IPD (g./día)	27,3±7,6 ^a	17,9±5,4 ^b
IC	2,5±0,5	2,9±0,3

2.3.2.4. Selección del origen de la boga (descarte o salvaje) como base para la elaboración del pienso.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El pulpo común es una de las especies con gran potencial para diversificar la acuicultura marina (Iglesias *et al.*, 2004). El engorde de individuos salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006). Sin embargo, las dietas naturales de esta especie están basadas en diferentes especies de crustáceos que son escasos en determinadas regiones, como ocurre en Canarias. El siguiente experimento parte de los resultados obtenidos por Socorro *et al.* (2005), que utilizó como dieta boga (*Boops boops*), proveniente de descartes de jaulas locales de engorde de dorada. Se pretende evaluar el efecto del origen de la boga, de descarte y salvaje, presentadas en forma troceada y en formato de pienso húmedo, sobre el crecimiento y la ingesta en *O. vulgaris*.

Material y métodos.

Aclimatación: para cada experiencia se capturaron ejemplares de pulpo procedentes del medio natural, que se estabularon en tanques rectangulares de 1,5 m³ de capacidad mantenidos en circuito abierto a una renovación completa a la hora. Después de la aclimatación de los animales y la comprobación de que aceptaban e ingerían de forma regular las dietas naturales comúnmente empleadas, como cangrejo y boga (Aguado & García García, 2003; García García & Cerezo Valverde, 2006), se procedió a la realización de los ensayos con dietas experimentales

En la elaboración de las dietas se utilizó únicamente filete de boga. Las dietas utilizadas fueron:

1. Pienso BD: Pienso boga descarte
2. Pienso BS: Pienso boga salvaje
3. Boga descarte troceada
4. Boga salvaje troceada
5. Control (40-60% boga descarte-cangrejo *P. pelagicus* troceado)

Para la elaboración de los piensos se utilizó el aglomerante Pokel Merls y Pokel Cals (Productos del Sur, S. A., Murcia), adaptando el protocolo de Cerezo *et al.*, (2008) a las características de las materias primas empleadas. La dosis diaria de pienso fue presentada en raciones de 6x6x6±1 cm. Cada dieta fue evaluada durante 1 mes en 20 pulpos macho, mantenidos en 4 tanques compartimentados con red de PVC en 4 subunidades de 400 l (4 individuos por dieta/tanque). La temperatura y oxígeno medio fue 21.9±0.6°C y 6.5±0.2 ppm respectivamente. Se calcularon los siguientes parámetros: incremento de peso diario (IPD=(P_f-P_i)/t), ingesta diaria estándar (IDE=AI*100/(t*(P_f-P_i)), índice de conversión (IC=AI/(P_f-P_i)), donde "P_f" es peso final, "P_i" es peso inicial, "t" es n° de días y "AI" es alimento ingerido en g. Se realizó un análisis de macronutrientes de las dietas (AOAC, 1997) y de los ácidos grasos (Izquierdo *et al.*, 1990).

Resultados y discusión.

La supervivencia fue del 100% en todas las dietas ensayadas. La dieta de boga de descarte y la dieta control (60-40% cangrejo-boga descarte) generaron un crecimiento similar (García García y Cerezo Valverde, 2006), que además no presentó diferencia estadística con el pienso BD. El crecimiento generado por el pienso BD fue superior al obtenido por otros autores usando piensos experimentales (Quintana *et al.*, 2008; Cerezo Valverde *et al.*, 2008) y es comparable al obtenido en experiencias de engorde en tanques donde se suministró alimento fresco troceado (Estefanell *et al.*, 2008; García García y Cerezo Valverde, 2006). El IPD fue significativamente más bajo en los animales alimentados con pienso BS (Tabla I).

Tabla I: Peso inicial y final y parámetros de ingesta y rendimiento.

	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarte	Boga salvaje	Control
Peso Inicial (g.)	918±241	882±130	864±185	889±118	1228±109
Peso final (g.)	1308±286 ^{ab}	1077±193 ^a	1350±253 ^{ab}	1245±193 ^a	1794±128 ^b
IDE (%/día)	3.1±0,2	3,1±0,4	3,9±0,6	2,9±0,6	2,9±0,2
IPD (g./día)	13,9±1,8 ^{bc}	7,0±2,6 ^a	17,4±3 ^{bc}	12,7±2,7 ^{ab}	19,1±2,5 ^c
IC	2,1±0,2 ^a	3,1±0,2 ^b	2,1±0,2 ^a	1,9±0,3 ^a	2,2±0,3 ^a

Aunque la IDE fue similar en todos los tratamientos, el IC del pienso BS fue significativamente peor que el pienso BD y las dietas troceadas. Esto se relaciona con una mayor disgregación de la mezcla, cuyo nivel de consistencia depende en gran medida de las materias primas utilizadas, y pone de manifiesto la necesidad de mejorar las características físicas de un pienso para esta especie y buscar nuevos aglutinantes. El mayor contenido lipídico de las dietas de origen de descartes confiere a estas dietas un mayor nivel energético (Tabla II) y posiblemente esté relacionado con el mayor crecimiento generado por estos tratamientos, respecto a las dietas de origen salvaje. Este hecho plantea nuevas hipótesis sobre los requerimientos nutricionales de esta especie, tradicionalmente considerada de metabolismo proteico (O'Dor *et al.*, 1984). Los resultados de marconutrientes de músculo de pulpo (tabla III) muestran un mayor nivel proteico en los ejemplares alimentados con boga de descarte respecto a las otras dietas, hecho sugiere un mayor aprovechamiento de las proteínas dietéticas cuando el nivel de lípidos es elevado.

El contenido lipídico de la glándula digestiva refleja el de las dietas y lo mismo sucede con los ácidos grasos, hecho previamente observado en otras especies de cefalópodos (Fluckiger *et al.*, 2008; Stowasser *et al.*, 2006). Por otro lado, el nivel de lípidos en músculo es más estable (tabla IV).

El perfil de ácidos grasos presenta 2 patrones distintos según origen salvaje o de descarte (Fig. 2). Destaca el elevado contenido en ácido oleico y linoleico de las dietas de descarte (tabla V), hecho que se relaciona con las grasas de origen vegetal presentes en los piensos. Por el contrario, los n-3 HUFA son cualitativamente más abundantes en las dietas de origen salvaje.

El perfil de ácidos grasos del músculo (tabla VI) es más estable entre tratamientos que el de la glándula digestiva (tabla VII). Destaca en músculo el bajo nivel de ARA en la dieta que presentó mayor crecimiento, a diferencia de lo observado en experiencias previas con larvas de pulpo común (Navarro y Villanueva, 2003).

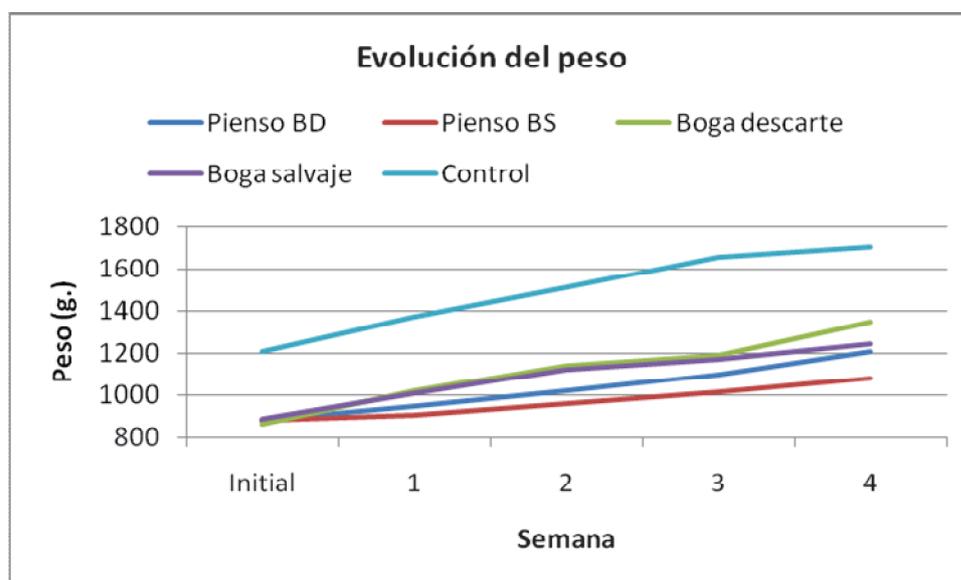


Fig. 1: Evolución del peso a largo del período de estudio.

Tabla II: Macronutrientes (%) en peso seco de las dietas.

DIETAS	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarte	Boga salvaje	Cangrejo <i>P. pelagicus</i>
Lípidos PS (%)	26.3±1.3 ^c	6.2±2.0 ^a	18.7±2.0 ^b	4.6±1.8 ^a	5.4±0.6 ^a
Proteínas PS (%)	59.1±2.7 ^a	77.7±4.5 ^b	75.2±2.8 ^b	88.0±2.5 ^c	82.9±4.0 ^b
Cenizas (%)	2.2±0.1 ^c	2.4±0.2 ^d	1.3±0.1 ^a	1.6±0.2 ^b	2.2±0.2 ^c
Humedad (%)	77.2±0.7 ^b	83.0±0.6 ^c	73.5±0.5 ^a	78.2±1.6 ^b	80.8±0.9 ^c
Energía (kJ/100g.)	571±21 ^b	362±24 ^a	669±19 ^c	495±54 ^b	420±11

Tabla III: Macronutrientes (%) en peso seco de músculo

MÚSCULO	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarte	Boga salvaje	Control	SALVAJE
Lípidos PS (%)	5.5±0.5 ^{bc}	6.1±0.6 ^{cd}	4.4±0.8 ^a	4.3±0.4 ^a	5.0±1.0 ^{ab}	6.1±0.2 ^d
Proteínas PS (%)	80.9±3.8 ^a	82.9±2.4 ^a	88.4±2.7 ^b	83.3±4.1 ^a	80.3±5.9 ^a	83.4±4.1 ^{ab}
Cenizas (%)	1.7±0.1 ^{ab}	1.7±0.1 ^a	1.6±0.1 ^a	1.9±0.2 ^{bc}	1.8±0.1 ^b	2.1±0.2 ^c
Humedad (%)	83.4±1.5 ^b	82.6±1.0 ^b	80.7±1.1 ^a	83.8±1.7 ^b	83.8±1.1 ^b	79.2±1.8 ^a

Tabla IV: Macronutrientes (%) en peso seco de glándula digestiva.

GLÁNDULA DIGESTIVA	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarte	Boga salvaje	Control	SALVAJE
Lípidos PS (%)	46.2±5.6	28.3±3.2	61.6±5.5	22.2±5.0	35.4±3.1 ^c	26.7±4.3 ^{ab}
Proteínas PS (%)	44.9±5.6	73.2±2.9	37.5±5.8	72.9±6.8	61.5±6.1 ^c	65.3±5.1 ^c
Cenizas (%)	63.6±3.6 ^{abcd}	67.4±2.8 ^d	60.7±2.7 ^a	64.7±1.6 ^{cd}	57.9±6.1 ^{ab}	63.8±1.2 ^{bc}
Humedad (%)	1.5±0.1 ^b	1.4±0.2 ^b	1.2±0.1 ^a	1.6±0.2 ^b	1.4±0.1 ^b	1.8±0.0 ^c

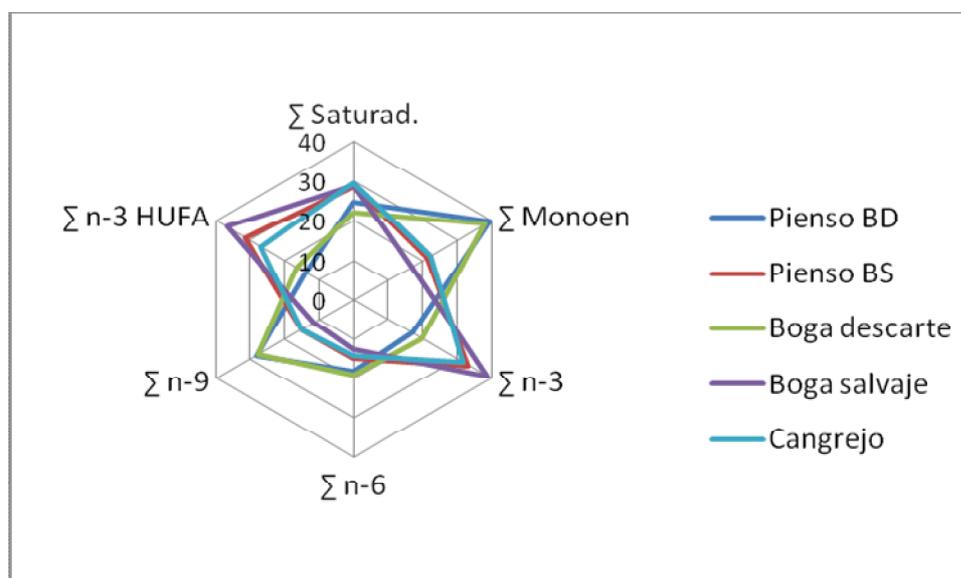


Fig. 2: Perfil de ácidos grasos (%) de las dietas.

Tabla V: Perfil de ácidos grasos (%) de las dietas.

DIETAS	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarté	Boga salvaje	Cangrejo <i>P. pelagicus</i>
Oleico	23.6±1.0 ^c	13.0±2.7 ^{ab}	23.4±0.6 ^c	9.4±2.1 ^a	14.1±0.6 ^b
Linoleico	15.8±0.7 ^c	8.5±0.8 ^b	16.8±0.5 ^c	5.9±3.1 ^b	2.2±0.0 ^a
ARA	0.5±0.0 ^a	2.6±0.9 ^b	0.6±0.0 ^a	2.8±0.5 ^b	9.1±0.9 ^c
EPA	3.3±0.1 ^a	4.7±0.5 ^b	3.4±0.3 ^a	4.5±1.4 ^{ab}	12.6±0.5 ^c
DHA	8.1±0.2 ^a	24.1±4.7 ^{cd}	10.3±0.7 ^b	30.1±6.0 ^d	13.1±2.7 ^{abc}
Σ Saturados	24.6±2.4 ^a	28.6±1.1 ^b	22.0±0.5 ^a	28.8±2.2 ^b	29.4±0.9 ^c
Σ Monoenos	39.4±2.1 ^b	21.2±4.2 ^a	38.2±0.7 ^b	16.9±4.0 ^a	22.4±1.7 ^a
Σ n-3	17.0±0.4 ^a	33.3±3.8 ^b	19.7±1.0 ^a	38.7±4.4 ^b	31.8±2.8 ^b
Σ -6	18.0±0.8 ^c	14.8±1.2 ^a	19.2±0.6 ^c	12.6±3.2 ^{abc}	14.1±0.6 ^{ab}
Σ n-9	28.3±1.4 ^b	15.2±3.6 ^a	27.7±0.6 ^b	11.7±3.1 ^a	15.1±0.1 ^a
Σ n-3 HUFA	13.7±0.3 ^a	31.3±4.2 ^{bc}	16.3±0.9 ^a	36.8±4.7 ^c	26.8±3.0 ^b

Tabla VI: Perfil de ácidos grasos (%) del músculo de pulpo.

MÚSCULO	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarté	Boga salvaje	Control	Salvaje
Oleico	10.3±0.5 ^{ab}	10.5±1.5 ^{ab}	9.7±0.4 ^{ab}	9.7±0.7 ^{ab}	10.8±0.8 ^b	8.4±0.9 ^a
Linoleico	0.9±0.1 ^{ab}	0.7±0.1 ^a	1.1±0.1 ^b	0.8±0.1 ^a	0.9±0.0 ^{ab}	0.8±0.1 ^a
ARA	9.4±0.5 ^{ab}	12.1±3.1 ^{bc}	6.9±1.0 ^a	10.0±0.9 ^{ab}	11.1±0.6 ^{bc}	14.3±0.9 ^c
EPA	11.7±0.9	10.4±2.0	11.9±1.2	10.3±0.6	9.9±0.1	11.3±0.5
DHA	24.0±1.4	23.1±4.3	24.2±2.0	23.0±0.6	23.1±1.8	25.0±1.5
Σ Saturados	23.4±1.5 ^b	22.2±1.8 ^b	26.0±2.3 ^c	25.1±0.1 ^{bc}	23.2±1.7 ^{bc}	19.2±0.6 ^a
Σ Monoenos	17.4±1.4 ^b	16.9±2.4 ^b	17.2±0.8 ^b	16.8±0.5 ^b	17.7±0.7 ^b	14.7±0.7 ^a
Σ n-3	43.8±2.4 ^{ab}	41.9±5.2 ^{ab}	43.9±2.3 ^{ab}	41.0±0.6 ^a	41.1±1.9 ^{ab}	46.0±0.6 ^b
Σ -6	14.0±0.6 ^{ab}	17.2±3.6 ^b	11.1±1.3 ^a	14.8±1.1 ^{ab}	15.9±0.8 ^b	17.5±1.2 ^b
Σ n-9	13.6±0.5 ^b	13.6±1.9 ^b	13.3±0.6 ^b	13.0±0.8 ^b	14.0±0.7 ^b	11.4±1.2 ^a
Σ n-3 HUFA	37.8±2.3 ^{ab}	35.7±6.0 ^{ab}	38.3±2.5 ^{ab}	35.2±0.7 ^a	34.9±1.8 ^{ab}	38.6±0.8 ^b

Tabla VII: Perfil de ácidos grasos (%) de la glándula digestiva.

GLÁNDULA DIGESTIVA	Pienso BD	Pienso BS	Boga descarté	Boga salvaje	Control	Salvaje
Oleico	16.1±2.0	13.3±1.7	19.4±0.7	13.4±1.5	19.1±0.9	13.3±2.2
Linoleico	15.9±2.2	6.8±0.9	18.6±1.0	5.1±1.5	13.9±0.8	1.2±0.0
ARA	1.9±0.3 ^b	3.5±1.0 ^c	1.1±0.1 ^a	3.8±0.7 ^c	3.4±0.9 ^c	10.6±2.5 ^d
EPA	6.1±0.5	5.6±0.5	5.0±0.5	6.2±0.5	5.3±0.3	5.4±1.8
DHA	13.8±1.1 ^a	18.1±1.5 ^b	11.4±1.1 ^a	19.7±1.5 ^b	11.5±0.3 ^a	11.0±3.4 ^a
∑ Saturados	25.4±6.6 ^{ab}	34.0±5.8 ^{ab}	19.7±1.1 ^a	29.6±1.0 ^b	22.6±0.9 ^a	30.6±4.8 ^b
∑ Monoenos	27.7±3.4 ^{ab}	22.7±2.4 ^a	33.5±1.7 ^b	25.1±2.1 ^a	33.2±1.2 ^b	27.4±5.5 ^{ab}
∑ n-3	25.0±1.3 ^{ab}	28.0±2.3 ^{bc}	21.8±1.8 ^a	30.5±1.9 ^c	21.8±0.2 ^{ab}	22.3±5.2 ^{abc}
∑ -6	20.7±2.1 ^b	13.7±1.7 ^a	23.8±1.4 ^b	13.3±1.1 ^a	20.4±0.4 ^b	16.0±3.1 ^{ab}
∑ n-9	19.7±2.4 ^{ab}	16.7±1.8 ^a	24.4±1.1 ^b	18.5±1.9 ^a	23.5±1.1 ^b	17.2±3.0 ^{ab}
∑ n-3 HUFA	22.4±1.3 ^{ab}	25.8±2.0 ^{bc}	19.1±1.7 ^a	28.0±1.7 ^c	19.3±0.1 ^a	18.3±3.7 ^{abc}

Bibliografía.

- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington
- Cerezo Valverde, J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F. y García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273
- Estefanell J., Socorro J., Roo J., Montero D., Ait Chattou M., Fernández-Palacios H. e Izquierdo M. S. 2008. Growth and fatty acid composition of *Octopus vulgaris* fed different diets based on bogue (*Boops boops*) in comparison to wild individuals. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feedings. Book of abstracts, poster 27. June 1-5. Florianopolis, Brasil.
- Fluckiger, M., Jackson, G. D., Nichols, P., Virtue, P., Daw, A. and Wotherspoon, S. 2008. *Mar Biol* , 154:363–372
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing *Aquaculture* 253, 502–511.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481–487.
- Navarro, J.C., Villanueva, R., 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219, 613–631.
- O'Dor, R.K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M.J., Wells, J. 1984. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Mar. Behav. Physiol.* 11, 239–258.
- Quintana, D., Domingues, P. y García S. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatine and feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280:161-164.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarté de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

Stowasser G, Pierce GJ, Moffat CF, Collins MA, Forsythe JW. 2006. Experimental study on the effect of diet on fatty acid and stable isotope profiles of the squid *Lolliguncula brevis*. J Exp Mar Biol Ecol 333:97–114

2.3.2.5. Evaluación del efecto de la dieta de descartes sobre sub-adultos.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El engorde de pulpos salvajes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006; García García *et al.*, 2009). Sin embargo, la talla inicial de cultivo es superior a 750 g. (talla mínima de captura en algunas regiones) existiendo pocas referencias sobre el engorde de tallas inferiores. Por otro lado, se estima que los descartes en acuicultura pueden suponer entre el 2 y el 5% de la producción bruta anual. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de 3 dietas basadas en boga (*Boops boops*), procedente de descartes de empresas locales de engorde de dorada, durante la fase de pre-engorde de ejemplares de pulpo, previo a su engorde en artefactos flotantes.

Material y Métodos.

- Sistema de cultivo: tanques circulares.
- N=36 pulpos, macho:hembra 1:1, talla inicial 417 ± 115 g.
- 3 dietas:
 - Boga de descarte
 - Dieta control (40-60% boga descarte-cangrejo *Portunus pelagicus*) (Fig. 1)
 - Pienso de boga de descarte (Pienso BD) (Fig. 2)
- Diseño experimental: 4 pulpos por tanque, 3 tanques por dieta.
- Duración: 4 semanas.
- Parámetros: Incremento de Peso Diario (IPD, g./día), Ingesta Diaria Estándar (IDE, %/día), Índice de Conversión (IC) y mortalidad (%).
- Análisis bioquímico: dietas, músculo y glándula digestiva.
- Tª: 21.5 ± 0.7 °C; Oxígeno disuelto: 6.4 ± 0.3 ppm

Resultados y discusión.

La ingesta-crecimiento fue superior en el grupo control (Tabla I), lo que pone de manifiesto un efecto beneficioso del cangrejo *P. pelagicus* (Fig 1) en pulpos de menor talla. El crecimiento obtenido por las dietas de boga de descarte fue menor que en pulpos de talla superior (Estefanell *et al.*, 2008; 2009), aunque en el caso del pienso BD (Fig 2) fue similar al obtenido por otros autores (Cerezo Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008). El mayor IC del pienso BD se relaciona con la elevada disgregación de la mezcla (Fig 3). La mortalidad fue baja en todos los tratamientos y se relacionan con una elevada dispersión inicial en las tallas, en algunos tanques superior al 40% (García García *et al.*, 2009).

El elevado nivel de cenizas del cangrejo (Tabla II) se ve reflejado tanto en la glándula digestiva como en el músculo, siendo ésta la única diferencia en cuanto a macronutrientes identificado en el grupo de mayor crecimiento. No se encontraron diferencias estadísticas en contenido lipídico y

proteico en la glándula digestiva independientemente de tratamiento, pero sí en el músculo (Tabla III) y podría estar relacionado con el mayor crecimiento de la dieta control.

Tabla I: Peso inicial, IDE, IPD e IC durante 4 semanas

	Boga descarte	Control	Pienso BD
Peso Inicial (g.)	403±128	422±122	411±114
IDE (%/día)	4.2±0.5 ^a	5.9±0.4 ^b	4.7±0.5 ^a
IPD (g./día)	10.8±3.7 ^{ab}	18.2±5.7 ^b	5.5±1.8 ^a
IC	2.1±0.3 ^a	2.0±0.3 ^a	4.0±0.6 ^b
Supervivencia (%)	75±25	92±14	92±14

Tabla II: Macronutrientes (%) en peso seco de las dietas.

DIETAS	Boga descarte	Cangrejo	Pienso BD
Lípidos PS	14.8±3.2 ^b	5.1±0.6 ^a	27.8±2.1 ^c
Proteínas PS	78.0±2.9 ^b	81.9±4.9 ^b	57.6±2.0 ^a
Cenizas	1.3±0.1 ^a	2.1±0.1 ^c	2.2±0.1 ^c
Humedad	73.5±0.8 ^a	80.4±0.1 ^c	77.7±0.6 ^b

Tabla III: Macronutrientes (%) en peso seco de músculo y glándula digestiva.

		Boga descarte	Control	Pienso BD
Músculo	Lípidos PS	4.6±0.4 ^b	3.2±0.4 ^a	3.2±0.2 ^a
	Proteínas PS	91.4±3.2 ^b	85.3±2.1 ^a	86.4±2.9 ^a
	Cenizas	1.6±0.1 ^b	1.9±0.1 ^c	1.2±0.1 ^a
	Humedad	81.8±1.3 ^b	80.0±1.2 ^a	80.7±0.4 ^{ab}
Glándula digestiva	Lípidos PS	41.1±5.1	33.3±9.6	36.7±4.6
	Proteínas PS	57.9±8.7	58.6±9.8	53.9±5.6
	Cenizas	1.1±0.1 ^a	2.0±0.1 ^c	1.5±0.1 ^b
	Humedad	59.6±3.3 ^a	58.0±3.4 ^a	66.7±3.9 ^b



Fig. 1: Cangrejo *Portunus pelagicus*



Fig. 2: Pienso elaborado con filetes de boga de descarte

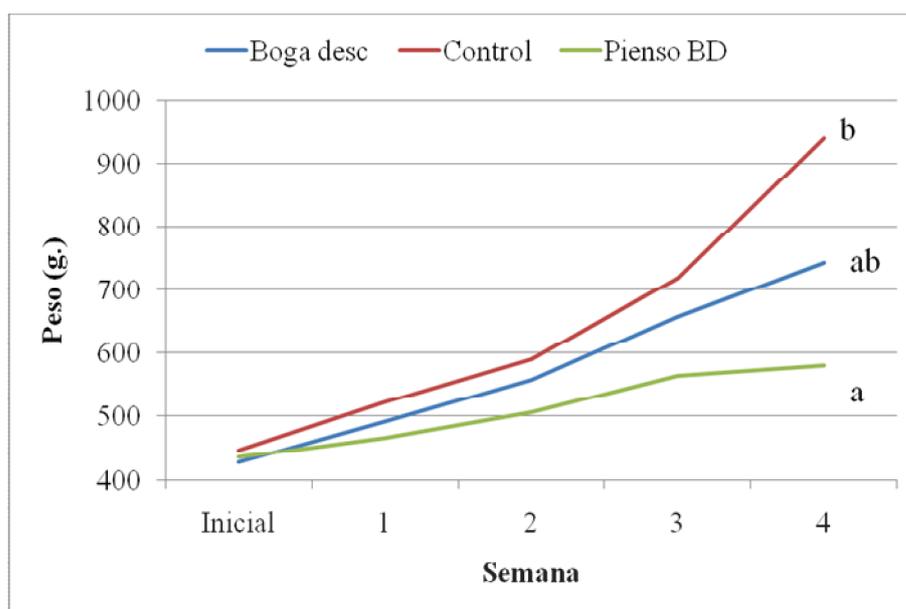


Fig. 3: Evolución del peso a lo largo del período de estudio

Conclusiones.

- La mayor ingesta y crecimiento observado en el tratamiento control, a diferencia de pulpos de mayor talla, sugiere diferentes requerimientos nutricionales en ejemplares de 400 g.
- La elevada disgregación del pienso BD pone de manifiesto la necesidad de mejorar las características físicas del pienso de esta especie.
- Se recomienda sembrar pulpos de tallas similares para reducir la mortalidad.
- El cangrejo presenta un mayor nivel de cenizas que las otras dietas, hecho que se ve reflejado tanto en músculo como en la glándula digestiva.

Bibliografía

Cerezo Valverde *et al.*. 2008. *Aquaculture* 275: 266–273

Estefanell *et al.*, 2008. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feedings. Book of abstracts, P27: 129.

Estefanell *et al.*, 2009. Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura. Oral.

García García *et al.*. 2009. *Aquaculture Research*. 40: 1202-1212.

Quintana *et al.*, 2008. *Aquaculture* 280: 161-164.

Rodríguez *et al.*, 2006. *Aquaculture*. 254: 293-300.

Socorro *et al.*, 2005. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21 (1-4): 189-194

2.3.2.6. Utilización de cangrejo como atrayente y empleo de harinas en un pienso de boga de descarte para pulpo común *Octopus vulgaris*.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El pulpo común es una de las especies con mayor potencial para diversificar la acuicultura marina (Iglesias *et al.*, 2004). El engorde de juveniles salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) y es una actividad implementada a nivel industrial en Galicia desde 1999, utilizando descartes de la pesca comercial como alimento. Sin embargo, la falta de un pienso específico para *Octopus vulgaris* limita la rentabilidad del cultivo de esta especie (García García y Cerezo Valverde, 2006). El presente trabajo, partiendo de un pienso experimental a base de boga (*Boops boops*) procedente de descartes de acuicultura, pretende evaluar si la inclusión de un 10% de cangrejo mejora la aceptación de la dieta, aumentando la ingesta y el crecimiento del pulpo común. Por otro lado, se evaluó la aceptación de una dieta fabricada a partir de harinas de las materias primas mencionadas, y su efecto sobre el crecimiento y la supervivencia.

Material y Métodos.

En la elaboración de las dietas húmedas se utilizó únicamente filete de boga de descarte y partes blandas de cangrejo. Las harinas, por otro lado, se elaboraron a partir de materias primas enteras, desecadas a 40°C durante 24 horas y finalmente molidas. Se elaboraron 4 dietas:

1. Pienso BD (elaborado únicamente con boga descarte),
2. Pienso H (harina de boga descarte y harina de cangrejo *Grapsus grapsus*),
3. Pienso BP (boga de descarte y cangrejo *Portunus pelagicus*) y
4. Pienso BM (boga de descarte y cangrejo moro *G. grapsus*).

Como control se utilizó una dieta con 40-60% boga descarte-cangrejo *P. pelagicus*, troceados. Cada dieta fue evaluada durante 8 semanas sobre 4 pulpos macho, mantenidos en tanques compartimentados (400 l por compartimento). La temperatura y oxígeno medio fue 18.4±0.4°C y 7.1±0.2 ppm respectivamente. Para la elaboración de los piensos se utilizó el aglomerante Pokel Merls y Pokel Cals (Productos del Sur, S. A., Murcia), adaptando el protocolo establecido en Cerezo *et al.* (2008) a las características de las materias primas empleadas en nuestros ensayos. La dosis diaria de pienso fue presentada en raciones de 6x6x6±1 cm. Se calcularon los siguientes parámetros: incremento de peso diario ($IPD=(P_f-P_i)/t$), ingesta diaria estándar ($IDE=AI*100/(t*(P_f-P_i))$), índice de conversión ($IC=AI/(P_f-P_i)$), donde "P_f" es peso final, "P_i" es peso inicial, "t" es nº de días y "AI" es alimento ingerido en g. La mortalidad se evaluó diariamente. Se realizó análisis de macronutrientes en las dietas, así como el efecto de los mismos en músculo y glándula digestiva de los pulpos alimentados con los diferentes tratamientos.

Resultados y Discusión.

Bajo las condiciones descritas, la inclusión de un 10% de cangrejo respecto al pienso de boga de descarte no mejoró la aceptación del pienso, sin afectar significativamente la ingesta y el crecimiento de los ejemplares. El pienso fabricado a base de harinas generó un crecimiento negativo (Figura 1) y fue el único que generó mortalidad durante el período de estudio. No hubo diferencias estadísticas entre las otras dietas experimentales y la dieta control en ningún parámetro evaluado (Tabla I). En el caso de los piensos

fabricados con materias primas húmedas los crecimientos fueron similares a Cerezo Valverde *et al.* (2008) y Quintana *et al.* (2008). A nivel de macronutrientes la inclusión de cangrejo no afectó a la composición de las dietas, salvo en el caso del contenido proteico y de cenizas del pienso H (Tabla II). Al igual que en el experimento del apartado 3.3.2.4, la glándula digestiva refleja el perfil lipídico de las dietas mientras que la composición del músculo se mantuvo más estable (Tabla III). La dieta control generó un pobre crecimiento, quizás provocado por los valores de temperatura del agua anormalmente bajos durante el período de estudio, que podría haber afectado a los parámetros biológicos evaluados.

Tabla I: Crecimiento y supervivencia en los diferentes tratamientos

	Pienso BD	Pienso H	Pienso BP	Pienso BM	Control
Peso Inicial (g.)	1002±241	984±145	962±75	946±185	970±150
Peso final (g.)	1495±308 ^b	827±164 ^a	1342±161 ^{ab}	1381±310 ^{ab}	1430±163 ^{ab}
ID (g./día)	35±3	28±9	29±5	34±6	28±10
IPD (g./día)	8,8±2 ^b	-1,9±1,0 ^a	6,8±1,6 ^b	7,8±2,4 ^b	8,2±1,5 ^b
IC	3,5±0,7	-	3,7±0,5	4,0±1,2	2,8±0,5
DGI (%)	3,8±0,4	1,6±0,9	3,3±0,1	3,5±1,1	3,0±1,0
Supervivencia (%)	100	75	100	100	100

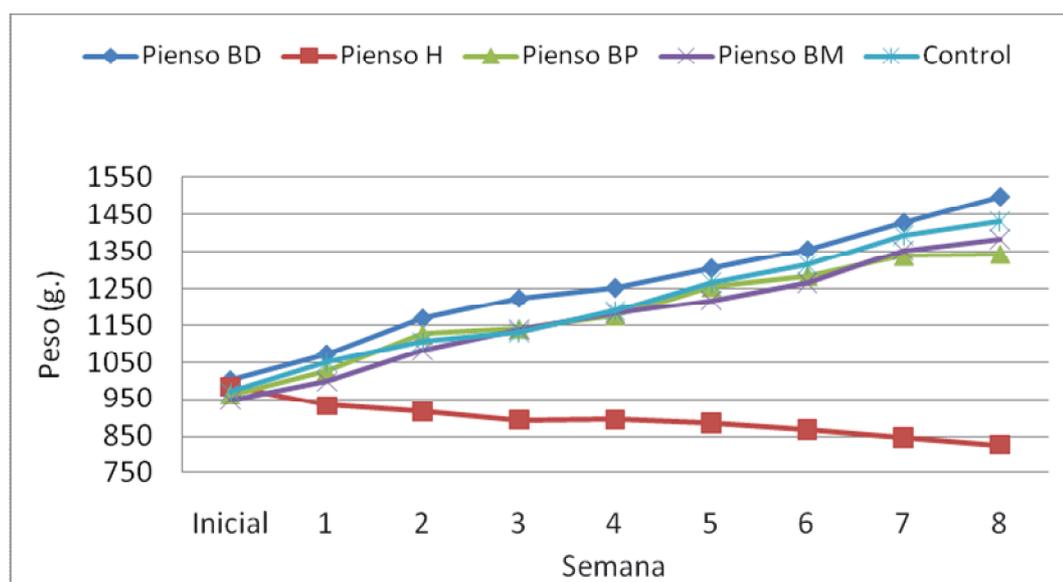


Fig. 1: Evolución del peso (g.) en el ensayo.

Tabla II: Macronutrientes (%) en peso seco de las dietas.

	Pienso BD	Pienso H	Pienso BP	Pienso BM	Boga descarte	Cangrejo
Lípidos PS (%)	27.7±0.5 ^{bc}	28.2±2.6 ^{bc}	30.0±2.5 ^c	31.6±3.6 ^c	22.2±6.8 ^b	7.6±0.7 ^a
Proteínas PS (%)	54.2±1.1 ^b	39.8±2.2 ^a	56.4±2.2 ^b	52.7±3.7 ^b	77.4±6.7 ^c	86.8±3.2 ^d
Humedad (%)	77.5±0.3 ^c	76.2±0.7 ^b	77.5±0.7 ^{bc}	77.4±1.3 ^{bc}	72.9±2.0 ^a	79.5±0.1 ^d
Cenizas (%)	2.3±0.2 ^c	4.4±0.3 ^d	2.2±0.1 ^c	2.1±0.1 ^c	1.1±0.2 ^a	1.8±0.1 ^b

Tabla III: Macronutrientes (%) en peso seco de músculo y glándula digestiva.

		Pienso BD	Pienso H	Pienso BP	Pienso BM	CONTROL
Músculo	Lípidos PS (%)	3.4±0.5 ^a	4.2±0.3 ^b	4.3±0.6 ^b	3.6±0.8 ^{ab}	3.1±0.6 ^a
	Proteínas PS (%)	88.6±3.1 ^b	89.2±3.2 ^b	82.6±2.9 ^a	81.0±3.4 ^a	83.1±9.6 ^{ab}
	Humedad (%)	81.9±0.7 ^{ab}	82.2±1.0 ^{ab}	80.9±1.1 ^a	81.4±1.5 ^{ab}	84.0±2.7 ^b
	Cenizas (%)	1.7±0.1 ^a	1.6±0.1 ^a	1.7±0.1 ^a	1.8±0.2 ^a	2.2±0.2 ^b
Glándula digestiva	Lípidos PS (%)	44.8±4.4 ^b	21.9±5.7 ^a	50.7±5.3 ^b	50.3±10.5 ^b	52.4±8.3 ^b
	Proteínas PS (%)	46.4±5.3 ^b	60.8±3.7 ^c	36.2±6.2 ^a	37.5±8.7 ^{ab}	36.9±6.5 ^a
	Humedad (%)	61.1±2.1 ^b	75.2±3.9 ^c	58.4±3.8 ^b	60.2±2.0 ^b	53.3±2.6 ^a
	Cenizas (%)	1.7±0.1 ^b	1.8±0.3 ^b	1.3±0.1 ^a	1.3±0.1 ^a	1.4±0.1 ^a

En base a estos resultados, las especies de cangrejo y las proporciones ensayadas no incrementaron la apetencia por del pienso del pulpo común, lo que plantea la necesidad de profundizar en la búsqueda de atractantes para el desarrollo de piensos en esta especie.

Bibliografía.

- Cerezo Valverde, J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F. y García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273
- Estefanell J., Socorro J., Roo J., Montero D., Ait Chattou M., Fernández-Palacios H. e Izquierdo M. S. 2008. Growth and fatty acid composition of *Octopus vulgaris* fed different diets based on bogue (*Boops boops*) in comparison to wild individuals. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feedings. Book of abstracts, poster 27. June 1-5. Florianopolis, Brasil.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing *Aquaculture* 253, 502–511.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481–487.
- Quintana, D., Domingues, P. y García S. 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatine and feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280:161-164.
- Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C., Rodríguez, M., 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile on growing in floating cages. *Aquaculture* 254, 293–300.

Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

2.3.2.7. Pruebas de aceptación de dietas en colaboración con otros grupos de investigación.

ICCM, C.A. de Canarias.

En colaboración con otros grupos de investigación se ensayaron experiencias conjuntas con piensos elaborados por otros grupos, en concreto de dietas enviadas por ETPP (Galicia) e IMIDA (Murcia). Las dietas experimentales se suministraron durante 1 semana, valorándose la aceptación de forma cualitativa según la escala: Nula (No capturan la dieta); Sólo visual (Capturan la dieta pero la sueltan nada más probarla); Sub-óptima (Capturan la dieta pero al intentar ingerirla la disgregan, sin generar heces o en muy poca cantidad); Óptima (Capturan e ingieren la dieta sin disgregarla y generando heces).

Se ensayaron 6 dietas en paralelo (5 de Galicia y 1 de Murcia) con el sistema de los compartimentos, 4 pulpos machos en tanques compartimentados (400 l por compartimento). El período de aclimatación fue de 3 semanas y la prueba de aceptación de 1 semana. La temperatura y oxígeno medio fue 21,2°C y 6,6 ppm respectivamente.

Los resultados de aceptación, crecimiento y supervivencia se describen en la tabla I y II.

Tabla I: Resultados de aceptación de los piensos de Galicia (junio 2008).

	Lirio-Mejillón			Ensilados	
	50-50%	80-20%	100-0%	Mejillón	Lirio
Peso Inicial (g.)	1833 ± 600	1935 ± 424	1695 ± 653	1905 ± 304	1974 ± 387
IPD (g./día)	-91 ± 58	-84 ± 53	-98 ± 46	-49 ± 16	-82 ± 17
Ingesta diaria (g.)	0	0	2,1 ± 2,6	0	0
Aceptación	Nula	Visual-Nula	Visual-Subópt.	Nula	Nula
Características físicas del pienso	Buen aspecto fuera del agua, pero elevada disgregación tras manipulación del pulpo. Se hidrata tras 24 horas en agua y flota (sobre todo los que incluían mejillón), cosa que dificulta su aceptación si no es capturado inmediatamente.			Muy blando, tras 24 horas en agua tipo "paté"... sin embargo presenta una flotabilidad negativa ideal.	

Tabla II: Resultados de aceptación del pienso de Murcia (junio 2008).

Peso Inicial (g.)	1801 ± 789
IPD (g./día)	-94 ± 8
Ingesta diaria (g.)	19 ± 4
Aceptación	Subóptima-Óptima
Características físicas pienso	Excelente textura incluso tras 24 horas en agua, aunque se observa una cierta disgregación. Problema: el pienso flota lo que dificulta su aceptación.

Conclusiones generales.

ICCM, C.A. de Canarias.

Como conclusiones generales podemos resumir que la línea inicial de trabajo empleando el Alginato como aglutinante principal para el pienso en pulpo, llevó tras la colaboración con otras comunidades a un protocolo de actuación en la elaboración de una adecuada formulación, y la búsqueda de un attractante en la elaboración de un pienso para pulpo *Octopus vulgaris*. De este modo se estableció un protocolo de elaboración de pienso empleando productos como pokel merl y pokel cal, ajustando la humedad de la mezcla final.

Tras partir de un protocolo consensuado en la elaboración del pienso se avanzó en la elección del sistema de cultivo individualizado para suministrar estos piensos. A partir de aquí si se observaron diferencias significativas positiva en el sistema de cultivo por compartimento individualizados frente a los acuarios. Se consideró el comportamiento territorial y de competitividad que presentan los animales en un tanque común, pero aislado, como un factor positivo que incita a un instinto natural de supervivencia y crecimiento. Como consecuencia y tras estos valores se consideró el cultivo en compartimento más adecuado frente a urnas individuales y con frontal de cristal.

Por otro lado en sistemas comunes, se recomienda sembrar pulpos de tallas similares para reducir la mortalidad.

En el empleo de los productos de descarte como base para la elaboración de una dieta húmeda, se determinó que el mayor contenido lipídico de las dietas de origen de descartes confiere a estas dietas un mayor nivel energético y posiblemente esté relacionado con el mayor crecimiento generado por estos tratamientos, respecto a las dietas de origen salvaje. Este hecho plantea nuevas hipótesis sobre los requerimientos nutricionales de esta especie, tradicionalmente considerada de metabolismo proteico. Los resultados de marconutrientes de músculo de pulpo mostraron un mayor nivel proteico en los ejemplares alimentados con boga de descarte lo que sugiere un mayor aprovechamiento de las proteínas dietéticas cuando el nivel de lípidos es elevado.

El contenido lipídico de la glándula digestiva refleja el de las dietas y lo mismo sucede con los ácidos grasos. Por otro lado, el nivel de lípidos en músculo es más estable.

El perfil de ácidos grasos presentó patrones diferentes según origen salvaje o de descarte, destacando el elevado contenido en ácido oleico y linoleico de las dietas de descarte.

Las experiencias realizadas con diferentes tallas, sugiere diferentes requerimientos nutricionales en ejemplares de 400 g, y por otro lado la elevada disgregación del pienso realizado con bogas de descarte pone de manifiesto la necesidad de mejorar las características físicas del pienso de esta especie.

En base a estos resultados, las especies de cangrejo y las proporciones ensayadas no incrementaron la apetencia por el pienso del pulpo común, el cangrejo presentó un mayor nivel de cenizas que las otras dietas, hecho que se ve reflejado tanto en músculo como en la glándula digestiva, lo que plantea la necesidad de profundizar en la búsqueda de attractantes para el desarrollo de piensos en esta especie.

Como resumen de estas experiencias, se ha logrado obtener crecimientos similares en dietas elaboradas, frente a dietas frescas, y en ellas el empleo de restos de descartes de la acuicultura ha permitido alcanzar valores similares a los proporcionados por dietas naturales. La evolución en los sistemas de cultivo individual también ha aportado importantes avances en el entendimiento del metabolismo de esta especie, demostrando la importancia energética que conlleva la ingesta de lípidos en el pulpo.

2.3.3. Experimentos desarrollados en el IMIDA., C.A. de Murcia.

2.3.3.1. Crecimiento y eficiencia de alimentación del pulpo de roca alimentado con dos dietas formuladas.

IMIDA, C.A. de Murcia.

Se elaboraron dos piensos artificiales diferentes empleando como aglomerantes gelatina (pienso G) o alginato (pienso A), y cuya composición porcentual se presenta en la Tabla 9. Para la elaboración del primero la gelatina se disolvió en agua destilada en frío con ayuda de un agitador magnético. Posteriormente se le añadió el pescado (*Boops boops*) y el langostino (*Hymenopenaeus muelleri*), previamente triturados y limpios de espinas o caparazones, mezclándose todo con una batidora. La mezcla resultante se calentó al baño maría hasta 80 °C mientras se homogeneizaba periódicamente. Finalmente se añadió en un molde de aluminio y se introdujo en el frigorífico durante 24 horas para que gelificara.

Para la elaboración del pienso A se preparó una papilla de alginato, mezclándose con el pescado y el langostino con la ayuda de una batidora. Posteriormente se adicionó una disolución de calcio para endurecer la mezcla. Después de homogeneizar el preparado se añadió en un molde de aluminio y se introdujo 24 horas en frío a 4 °C. Finalmente, ambos piensos se cortaron en trozos cuadrados de unos 3 x 3 cm y se congelaron hasta su uso (ver Figura 2).

La estabilidad de ambos piensos en agua se valoró determinando el peso de cinco muestras antes y después de introducir las en agua durante 4 y 24 horas. Con los datos obtenidos se calcularon para cada uno de los piensos los valores medios de los dos índices siguientes:

$VP (\%) = (Pf - Pi) / Pi * 100$, que expresa la variación del peso del pienso en porcentaje después de sumergirlo en el agua, y donde Pi y Pf representan el peso de la muestra de pienso antes y después de sumergirlo, respectivamente.

$F = Pi / Pf$, que representa un factor de corrección. El peso del pienso no ingerido fue multiplicado por este factor de corrección para tener en cuenta la absorción de agua o la disgregación con el fin de estimar el cambio en el peso.

Tabla 1. Composición porcentual de los ingredientes de los dos piensos experimentales.

Pienso/Ingrediente	Gelatina ¹	Agua	Alginato ²	D. Calcio ³	Boga ⁴	Langostino ⁴
G	10	40	--	--	40	10
A	--	--	30	10	50	10

¹Gelatina Bloom 220*

²Papilla de Alginato. Contiene 62,5 g de POKEL MERL* en 1 litro de agua destilada.

³Disolución de Calcio. Contiene 1 g de POKEL CALS* en 10 ml de agua destilada.

⁴Porción comestible

*Proporcionado por Productos Sur, S.A. (Pol. Ind. Oeste, San Ginés, Murcia).

Diseño experimental

Se ensayaron durante cuatro semanas las dos dietas artificiales que emplearon como aglomerantes gelatina (grupo G, N=5) o alginato (grupo A, N=5), así como una tercera dieta control a base de cangrejo (grupo C, N=4). Todas se administraron seis días a la semana a saciedad a primera hora de la mañana (9:00), recogiendo el alimento sobrante a última hora (13:00-13:30) en el caso de las dietas A y G, y a la mañana siguiente para la dieta C, debido al mayor tiempo requerido para extraer la carne del cangrejo. El alimento sobrante se secó y pesó para calcular la ingesta diaria.

Métodos analíticos

La composición corporal (humedad, proteína, lípidos y minerales) fue analizada en 5 pulpos de peso similar (control inicial) a los usados en el experimento y en todos los pulpos al final del experimento. Con este fin, los animales excluyendo la glándula digestiva (EDG), y la glándula digestiva (DG) fueron picados y triturados de forma separada hasta obtener una mezcla homogénea. Posteriormente, la composición corporal total (TBC) fue calculada a partir de los valores de EDG y DG de acuerdo a la ecuación:

-TBC (%) = $(EDGW*(EDG/100) + DGW*(DG/100) / (BW)*100$, donde TBC, EDG y DG son respectivamente los porcentajes del macronutriente en el animal completo, el animal sin la glándula digestiva y en la glándula digestiva; BW, EDGW, DGW son respectivamente los pesos del animal sin la glándula digestiva, de la glándula digestiva y del animal completo. La composición de la dieta artificial y de la porción comestible del cangrejo también fue analizada.

-Humedad: Mediante estufa de desecación a $105\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante. (AOAC, 1997; Método n.º 930.15).

-Grasa bruta: Se determinará mediante extracción con éter etílico en un extractor SOXTEC AVANTI 2058 (AOAC, 1997; Método n.º 920.39).

-Minerales totales: Por incineración en horno Mufla a $450\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante (AOAC, 1997; Método n.º 942.05).

-Proteína bruta: Se determinará por el método de Kjeldahl, utilizando un catalizador comercial. Para la transformación del nitrógeno en proteína se utilizará el factor 6,25. (AOAC, 1997; Método n.º 954.01).

Parámetros calculados y análisis de los datos:

Con los datos obtenidos se obtuvieron los siguientes índices: W_i = Peso medio inicial; W_f = Peso medio final; WI = Incremento de peso; AFR = Tasa de Alimentación Absoluta (alimento ingerido / n.º días); SFR = Tasa de Alimentación Relativa (alimento ingerido/((P_i+P_f)/2)*100; $APFR$ = Tasa absoluta de alimentación de proteína = IP/t ; $ALFR$ = Tasa absoluta de alimentación de lípidos (IL/t); AGR = Tasa de Crecimiento Absoluto (Incremento de peso / n.º días); SGR = Tasa Específica de Crecimiento ($(\ln(P_f) - \ln(P_i)) * 100 / \text{n.º días}$); FE = Índice de Eficacia Alimentaria ($AP*100/\text{Alimento ingerido}$); FCR = Índice de conversión ($\text{Alimento ingerido}*100/AP$); PPV = Valor productivo de la proteína (prot. retenida*100/ prot. consumida); LPV = Valor productivo de la grasa (grasa. retenida*100/grasa consumida); P/E = Relación energía/proteína (g/MJ); DGI = Índice de la glándula digestiva ($(DGW/W_f)*100$); donde W_f = Peso final en g; W_i = Peso inicial en g; W_a = Peso medio entre muestreos en g; t = tiempo en días; IF = alimento ingerido en gramos (alimento suministrado-

alimento sobrante*F, con valores de F de 1,14, 0,99 y 1 para las dietas G, A y C, respectivamente); IP proteína ingerida en g; IL ingested lipid in g; DGW = peso de la glándula digestiva. Para analizar la variación en la ingesta diaria y a lo largo de todo el experimento se calculó la tasa instantánea de alimentación día a día (IFR). IFR se obtuvo como los g de alimento consumido por pulpo y día usando el peso corporal estimado a partir de SGR para ese animal.

El efecto de las distintas dietas sobre los índices se analizó con el ANOVA de una vía y la significación de las diferencias de los valores medios de los índices se analizó con el test de Tukey HSD para números desiguales de muestras. Se llevó a cabo una transformación en logaritmos neperianos de los índices y porcentajes antes del ANOVA.

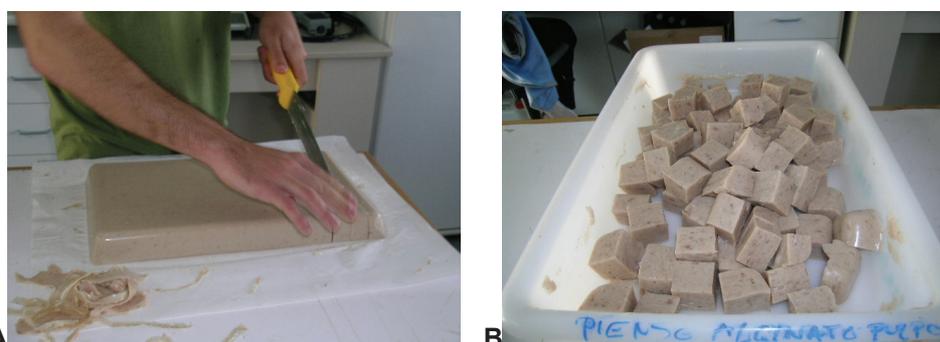


Figura 1(A-B). Imágenes del proceso de elaboración del pienso y apariencia final.

Resultados

Ambos piensos presentaron una textura firme antes de introducirlos en agua. No obstante, el pienso G perdió un 11,8 % de su peso y el A ganó un 0,37 % después de 4 horas de introducirlos en el agua resultando en una mayor estabilidad del pienso que contiene alginato como aglomerante, así como mayor aceptabilidad por parte de los pulpos. Cuando los piensos permanecieron 24 horas en agua estas diferencias se acentuaron, de forma que el pienso G llegó a perder aproximadamente un 19 % de su peso, adquiriendo una textura blanda y difícilmente manipulable por los animales. Sin embargo, el pienso A permaneció estable conservando la firmeza inicial en su textura (ver Tabla 10).

Tabla 2. Resultados de la prueba de estabilidad en agua para los piensos G y A.

Pienso	4 horas en agua		24 horas en agua	
	VP (%) ¹	F ²	VP (%) ¹	F ²
G (N= 5)	-11,88	1,14	-18,75	1,25
A (N=5)	0,37	0,99	2,08	0,98

¹Variación media del peso del pienso en porcentaje después de sumergirlo en agua

²Factor de corrección para el cálculo de la ingesta real

Ambos piensos presentaron una humedad entre el 70 y 75 %, por lo que se pueden considerar piensos húmedos. La diferencia principal entre el pienso G y A es el mayor contenido en proteína, energía y relación P/E del primero (Tabla 11), así como la forma de elaboración. En comparación con el cangrejo, las diferencias principales estriban en el mayor contenido energético

de ambos piensos, así como mayores porcentajes de grasa, alcanzando casi un 10 % en el pienso A. El porcentaje de proteína del pienso G (21,29 %) duplicó a las dietas restantes.

Tabla 3. Composición de cada dieta en peso húmedo.

Dieta	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	M.E.L.N. ¹ (%)	Energía (kJ/100 g)	P/E (g/MJ)
G	71,33	21,29	6,46	0,80	0,12	756	28,17
A	74,28	11,31	9,47	2,62	2,32	674	16,78
C	80,94	11,92	2,49	3,43	1,22	399	29,91

¹Material extraíble libre de nitrógeno

Al inicio del experimento no existieron diferencias significativas entre los pesos medios de los distintos grupos. Los dos grupos G y A aceptaron el pienso suministrado, crecieron y generaron una cantidad significativa de heces, registrándose una supervivencia del 100 % para todos los grupos experimentales. Los animales alimentados con cangrejo presentaron de forma significativa los mejores índices de crecimiento (WI, AGR y SGR) así como las mayores tasas de ingesta, siendo significativas para la AFR y APFR respecto de los grupos A y G, y además para la SFR respecto de este último grupo (Tabla 12). El grupo A duplicó la ALFR (2,6 g/d) respecto del grupo C (1,2 g/d) y triplicó a la del grupo G (0,7 g/d). El grupo alimentado con cangrejo también mostró los mejores índices de aprovechamiento nutritivo de la dieta (FE, FCR, PPV y LPV), incorporando a su peso el 34 % del alimento ingerido, seguido del grupo A (22,5 %) y finalmente del G (16,1 %), el cual mostró los peores resultados. Entre los grupos C y G las diferencias fueron significativas para los cuatro índices de aprovechamiento nutritivo calculados, sin embargo, entre los grupos C y A sólo existieron para el caso concreto del LPV. A diferencia de los grupos C y A, que mostraron valores positivos del PPV (49,0 y 28,5 %, respectivamente) y LPV (23,6 % y 1,6 %, respectivamente), los animales del grupo G mostraron valores negativos para ambos índices (PPV = -5,3 %; LPV = -7,6 %). De forma similar, los valores de DGI también fueron inferiores en el grupo G (3,4 %) respecto de los grupos C (5,0 %) y A (4,2 %), aunque las diferencias no llegaron a ser significativas (Tabla 12).

Las diferencias principales en la composición nutritiva de los distintos grupos experimentales se deben al contenido en agua y lípidos (ver Tabla 13). La humedad de los animales osciló entre el 78,3 y 80,8 %, siendo significativamente inferior en aquellos alimentados con cangrejo ($P < 0,001$). Estas diferencias se acentúan a nivel de la glándula digestiva, con valores del 57,2 % en el grupo C y de hasta el 73,0 % en el G. El contenido lipídico mostró un patrón inverso al de humedad, de forma que los animales alimentados con cangrejo duplicaron el porcentaje de grasa del control inicial y del grupo A, tanto nivel de la glándula digestiva (15,01 % frente a 7,03 % y 6,41 %, respectivamente) como al considerar la composición corporal global (0,90 frente a 0,45 y 0,49 %, respectivamente). Los animales alimentados con el pienso G mostraron en ambas fracciones los niveles más bajos de lípidos en comparación con los grupos restantes (1,27 % para la glándula digestiva y 0,29 % para la TBC). No existieron diferencias significativas en el porcentaje de grasa de la fracción EDG ($P > 0,05$).

Tabla 4. Valores medios y desviación estándar de cada índice para cada uno de los grupos experimentales

Grupo	C	G	A	ANOVA
N	4	5	5	
Wi (g)	819±149 ^a	852±105 ^a	810±157 ^a	ns
Wf (g)	1257±150 ^a	903±92 ^b	979±165 ^b	P<0,01
WI (g)	438±38 ^a	51±28 ^b	169±68 ^c	P<0,001
AFR (g/día)	48,0±2,8 ^a	11,3±2,6 ^b	27,1±5,4 ^c	P<0,001
APFR (g/día)	5,7±0,3 ^a	2,4±0,6 ^b	3,1±0,6 ^b	P<0,001
ALFR (g/día)	1,2±0,1 ^a	0,7±0,2 ^a	2,6±0,5 ^b	P<0,001
SFR (%)	4,7±0,5 ^a	1,3±0,3 ^b	3,1±0,8 ^a	P<0,001
AGR (g/día)	16,2±1,4 ^a	1,9±1,0 ^b	6,3±2,5 ^c	P<0,001
SGR (%)	1,6±0,3 ^a	0,2±0,1 ^b	0,7±0,3 ^c	P<0,001
FE (%)	34,0±3,8 ^a	16,1±7,4 ^b	22,5±5,0 ^{ab}	P<0,01
FCR	3,0±0,4 ^a	7,1±2,6 ^b	4,6±1,2 ^{ab}	P<0,05
PPV	49,0±6,7 ^a	-5,3±20,8 ^b	28,5±9,3 ^a	P<0,05
LPV	23,6±3,5 ^a	-7,6±8,3 ^b	1,6±1,4 ^c	P<0,05
DGI (%)	5,0±0,3 ^a	3,4±1,1 ^a	4,2±0,5 ^a	ns

n.s. = no significativo (P>0.05); *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001

Los porcentajes de proteína de las distintas fracciones analizadas oscilaron entre un 14,78 y 16,27 % en la composición global, entre un 14,68 y 16,07 % para la fracción EDG y entre un 18,12 y 21,85 % en la GD. No existieron diferencias en los porcentajes de proteína considerando la TBC y EDG, sin embargo, a nivel de la glándula digestiva, los animales alimentados con el pienso G mostraron valores significativamente inferiores respecto del control inicial (P<0,05), sin que existieran diferencias con los grupos restantes.

El porcentaje de minerales en la composición corporal global varió entre un 1,99 % en el grupo C y un 2,36 % en el control inicial, con diferencias significativas entre este último y los grupos C y G. No existieron diferencias en el porcentaje de minerales ni en el MELN de los distintos grupos experimentales (C, G y A) para ninguna de las fracciones analizadas.

Discusión

En el presente estudio se han obtenido resultados novedosos en cuanto a la elaboración de un pienso húmedo artificial que ha sido aceptado por el pulpo común, originando un crecimiento y aprovechamiento nutritivo significativos. Estos resultados contrastan con estudios previos que revelan la dificultad de los cefalópodos para aceptar dietas artificiales (Lee et al., 1991; Castro et al., 1993), incluido el pulpo de roca (O`Dor et al., 1984), y en caso de ser aceptadas se observaron bajas tasas de ingesta respecto de los controles que consumieron una dieta natural, además de un pobre o nulo crecimiento (Tabla 14) y, en ocasiones, elevada mortalidad (Castro et al., 1993). No obstante, la producción científica sobre esta línea de investigación es aún escasa - sobre todo en comparación con la producción científica en peces -, razón por la cual el estudio de la palatabilidad y composición nutricional de estos piensos se encuentra todavía en una fase incipiente.

Tabla 5. Composición corporal global en peso húmedo (TBC), excluyendo la glándula digestiva (EDG) y de la glándula digestiva (DG) de cada grupo experimental.

Grupo	Inicial (N = 5)	C (N = 4)	G (N = 5)	A (N = 5)	ANOVA
TBC¹					
Humedad	79,86±0,47 ^a	78,31± 0,77 ^b	80,84 ± 0,85 ^a	79,78± 0,53 ^a	P<0,001
Proteína	15,79±0,63 ^a	16,27 ± 0,85 ^a	14,78 ± 1,05 ^a	15,61±0,47 ^a	ns
Lípidos	0,45±0,09 ^{ac}	0,90 ± 0,10 ^b	0,29 ± 0,09 ^a	0,49±0,09 ^c	P<0,001
Cenizas	2,36±0,07 ^a	1,99 ± 0,11 ^b	2,02 ± 0,13 ^b	2,14±0,10 ^{ab}	P<0,01
NFE ²	1,52±0,54 ^a	2,53 ± 0,65 ^a	2,06 ± 0,82 ^a	1,98±0,40 ^a	ns
EDG					
Humedad	80,69±0,50 ^{ab}	79,41 ± 0,75 ^a	81,11 ± 0,80 ^b	80,38± 0,50 ^{ab}	P<0,05
Proteína	15,52±0,70 ^a	16,07 ± 0,87 ^a	14,68 ± 1,09 ^a	15,46± 0,52 ^a	ns
Lípidos	0,16±0,05 ^a	0,16 ± 0,12 ^a	0,26 ± 0,08 ^a	0,23± 0,05 ^a	ns
Cenizas	2,39±0,07 ^a	2,00 ± 0,11 ^b	2,02 ± 0,14 ^b	2,14± 0,10 ^b	P<0,01
NFE ²	1,23±0,57 ^a	2,35 ± 0,64 ^a	1,93 ± 0,88 ^a	1,78±0,43 ^a	ns
DG					
Humedad	61,09±1,67 ^a	57,20 ± 0,69 ^b	73,00 ± 1,58 ^c	66,03±2,45 ^d	P<0,001
Proteína	21,85±1,72 ^a	20,24 ± 0,77 ^{ab}	18,12 ± 1,54 ^b	18,96±2,00 ^{ab}	P<0,05
Lípidos	7,03±2,08 ^a	15,01 ± 1,41 ^b	1,27 ± 0,38 ^c	6,41±2,36 ^a	P<0,001
Cenizas	1,75±0,25 ^a	1,74 ± 0,16 ^a	2,11 ± 0,34 ^a	2,04±0,28 ^a	ns
NFE ²	8,27±0,76 ^a	5,81 ± 1,59 ^a	5,50 ± 2,15 ^a	6,56±1,41 ^a	ns

En la Figura 3 se comparan la AGR, AFR y FE obtenidos con las tres dietas suministradas en el presente estudio con los valores estimados según García García y Aguado (2002) y Aguado y García García (2002) para otras dietas naturales empleadas en condiciones experimentales similares. El grado de aceptabilidad del pienso A ha sido similar al mostrado cuando se suministra pescado (sardina o boga), con valores de AFR que oscilan entre 23 y 27 g/día. No obstante los resultados obtenidos con dietas a base de cangrejo o crustáceos pueden duplicar o triplicar estos valores (48-69 g/día), lo que se traduce también en una mayor ingesta de proteína (5,7 g/d para el grupo C y 3,1 para el A). El resultado es un crecimiento en los animales alimentados con crustáceos (16-17 g/d) que duplica a los alimentados con el pienso A (6-7 g/d) o con pescado (8-9 g/d). En principio, este echo no puede atribuirse a un mal aprovechamiento nutritivo de estas últimas, puesto que no existieron diferencias significativas en el IEA de animales alimentados con crustáceos (25-34 %) respecto de los alimentados con el pienso A (23 %), siendo el pescado bajo en grasa (*Boops boops*) el que ofrece los mejores resultados (41 %). El aprovechamiento de la proteína tampoco

parece ser responsable de las diferencias en el crecimiento, con valores del PPV del 28-49 % cuando se suministran crustáceos, 33 % para una dieta mixta a base de pescado y cangrejo, 36 % para el pescado y del 28 % para el pienso tipo A (valores del PPV de acuerdo con García García y Cerezo Valverde, 2006). Por lo tanto, la gran diferencia parece ser la cantidad de alimento ingerido al suministrar crustáceos u otro tipo de alimento, coincidiendo en esta observación numerosos trabajos previos (Cagnetta y Sublimi, 2000; Aguado and García García, 2002; García García y Cerezo Valverde, 2006). En este sentido, la humedad y texturas, sustancias químicas/atrayentes, la composición nutritiva o incluso formas de elaboración de los piensos son algunos de los numerosos interrogantes que pueden jugar un papel clave y que requieren de ensayos específicos.

Tabla 6. Resumen de los pesos corporales (BW), tasa relativa de alimentación (SFR) y tasa específica de crecimiento (SGR) obtenidas en distintos ensayos con dietas artificiales para cefalópodos.

Especie	Dieta	BW (g)	SFR (% BW ⁻¹)	SGR (% BW ⁻¹)	Referencias
<i>Octopus bimaculoides</i>	Pellets camarón	125	5.3	-10.5	1
<i>Octopus bimaculoides</i>	Surimi (sabor cangrejo)	125	0.2	-0.5	1
<i>Octopus bimaculoides</i>	Pellets pollo	125	2.7	-6.8	1
<i>Sepia officinalis</i>	Pellets peneidos	420	1-3	0.0-0.6	1
<i>Octopus vulgaris</i>	Pellets peneidos	>250	Palatable	Sin crecimiento	1
<i>Sepia officinalis</i>	Surimi (pescado)	75	3-9	0.54	2
<i>Sepia officinalis</i>	Pellets (camarón)	75	1.0-3.0	0.33	2
<i>Sepia officinalis</i>	Surimi (purificada)	106	2.4-5.3	-0.26-0.33	3
<i>Sepia officinalis</i>	Surimi (suplementado)	322-451	2.6-2.8	-0.02-0.30	4
<i>Octopus maya</i>	Pellets secos	472	2.8	0.0	5
<i>Octopus maya</i>	Pellets (pasta calamar)	486	Palatable	-0.08	6
<i>Octopus vulgaris</i>	Pellets húmedos (tipo A)	810	3.1	0.7	7
<i>Octopus vulgaris</i>	Pellets húmedos (tipo B)	852	1.3	0.2	7

*(1) Lee *et al.*, 1991; (2) Castro *et al.*, 1993; (3) Castro *et al.*, 1994; (4) Domingues *et al.*, 2005; (5) Domingues *et al.*, 2007; (6) Rosas *et al.*, 2007; (7) Presente estudio.

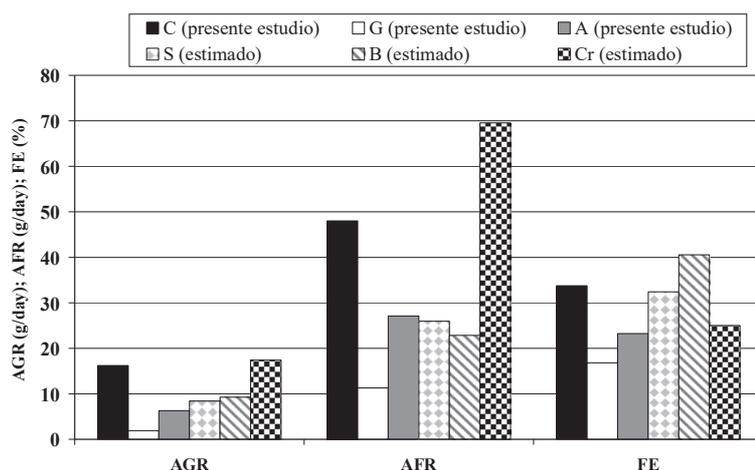


Figura 3. Comparación de la AGR, AFR y FE obtenidos con las dietas suministradas en el presente estudio (C = Cangrejo; G = Gelatina; A = Alginato) y estimados para otras dietas empeladas (S = Sardina; B = Boga; Cr = Crustáceos) en condiciones experimentales similares (peso corporal = 1 Kg y temperatura = 18,9°C) según García García y Aguado (2002) y García García y Aguado (2002).

Según nuestros resultados, la humedad no debería haber influido en las diferencias observadas en la ingesta puesto que ambos piensos y el cangrejo presentaron unos niveles parecidos, en torno al 70-80 %. Aun así, este factor sí puede haber influido en la palatabilidad de dietas artificiales para cefalópodos. *Octopus bimaculoides* rechazó pellets con una humedad del 10 % (dry mysid pellets), sin embargo otros con una humedad del 40 % (penaeid pellets) fueron ingeridos parcialmente, y finalmente un puré con una humedad similar al de las dietas naturales fue aceptado con éxito (Lee et al., 1991). Posteriormente, Castro et al. (1993) registraron tasas de ingesta inferiores al 3 % para una dieta a base de pellets con 47 % de humedad, sin embargo la de surimi con humedad del 82 % estuvo en torno al 8-9 % BW d-1, con valores similares a la dieta natural. También podría existir una variabilidad entre especies, observándose tasas de ingesta elevadas en *Octopus maya* al suministrar piensos secos (Domingues et al., 2007). De cualquier forma, el objetivo debe ser la elaboración de piensos secos debido a las numerosas ventajas que presentan, incluyendo la estabilidad en el suministro y calidad nutricional, almacenamiento y transporte sencillo, mínima manipulación en la instalación, menor riesgo de transmisión de enfermedades (por las altas temperaturas empleadas en el proceso de fabricación), se conservan bien por su bajo contenido en agua, y son altamente digestibles presentando un menor impacto ambiental. Este último aspecto es especialmente relevante en el caso del engorde de pulpo donde el principal impacto ambiental se deriva de la porción no comestible del alimento suministrado (Mazón et al., 2007).

En referencia a las distintas texturas ensayadas aquellas homogéneas y flexibles se han sugerido más apropiadas que otras fibrilares (Castro et al., 1993). Los piensos de textura no apropiada suelen ser disgregados en pequeños trozos y dispersados por la corriente exhalante del sifón (Lee et al., 1991; Domingues et al., 2005; observación personal). En ambos piensos del presente estudio se han logrado texturas uniformes y flexibles, sin que se observaran signos evidentes de disgregación al manipularlo por parte de los pulpos. Sólo algunos ejemplares disgregaron ligeramente el pienso G, lo que podría atribuirse a su menor estabilidad en agua.

Otro aspecto interesante es la inclusión de determinados saborizantes y/o atrayentes que mejoren la palatabilidad o las propiedades organolépticas de estos piensos. Tal y como se observa en la Figura 4 (A-B) la tasa de crecimiento guarda una relación lineal con la tasa de alimentación absoluta o de proteína, independientemente de la dieta suministrada, sugiriendo que el crecimiento puede estar ligado, además de las propiedades nutritivas del alimento suministrado, a la preferencia por ingerir un alimento u otro. En este punto habría que diferenciar entre aquellas sustancias que favorecen la captura del pienso y aquellas que favorecen su ingestión. Así, Lee et al. (1991) observaron como dos tipos distintos de surimi que incluían extractos naturales o artificiales de cangrejo eran rápidamente capturados por *O. bimaculoides*, sin embargo, en cuanto entraban en contacto con el animal eran rechazados. En el caso concreto de *O. vulgaris* el ácido glutámico, la glicina o el AMP se han mostrado atrayentes (Chase and Wells, 1986), sin embargo, queda el interrogante de si estas mismas sustancias son capaces también de estimular la ingesta.

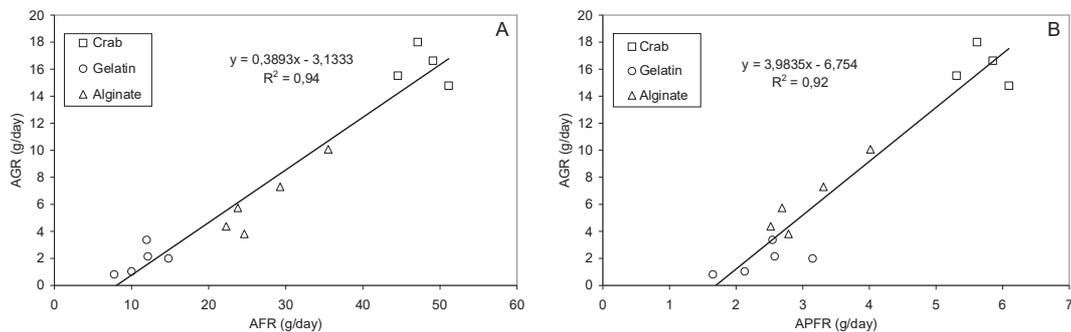


Figura 4(A-B). Tasa de crecimiento absoluta (AGR) en función de la tasa de alimentación absoluta (AFR) y de la tasa absoluta de alimentación de proteína (APFR) para las tres dietas suministradas.

Por otra parte, la composición nutricional o incluso la forma de elaboración podría haber afectado a la ingesta de los piensos a largo plazo. En las tres dietas suministradas los pulpos mostraron en los días posteriores al ayuno IFR muy superiores respecto de los días restantes (Figura 5). Esta respuesta compensatoria les permite alcanzar crecimientos similares respecto de animales que no ayunaron ningún día a la semana (García García and Cerezo, 2004). No obstante, en el caso de las dos dietas artificiales se observan dos respuestas bien diferenciadas tras el ayuno. A pesar que en ambas se alcanzaron IFR de hasta un 4-5 % BW/d, en el caso del pienso G la ingesta no se mantiene y cae bruscamente incluso hasta provocar el rechazo del pienso los días posteriores. Por el contrario, la ingesta del pienso A se suele mantener constante al igual que lo ocurrido cuando se suministra cangrejo y sugiriendo una diferencia entre ambos piensos. A priori, el pienso G parecía más apropiado nutricionalmente, presentando una relación energía /proteína y humedad similares al cangrejo, así como menores niveles de grasa, lo que incluso podría haber favorecido el aprovechamiento de la proteína (García García y Cerezo Valverde, 2006). También las texturas de ambos piensos fueron similares e inicialmente eran capturados con avidez, por lo que la diferencia principal entre ambos piensos podría ser la forma de elaboración. A la mezcla del pienso G fue necesario aplicar calor para que gelificara lo que indirectamente podría haber afectado a la calidad nutricional del pienso. La destrucción de vitaminas, rotura de las proteínas o liberación de aminoácidos (Domingues et al., 2005) o incluso reacciones de Maillard (Deng et al., 2005) podrían haber disminuido el valor nutritivo de la dieta para el pulpo. De forma parecida Castro et al. (1993) atribuyeron la disminución de la ingesta de surimi a largo plazo en *Sepia officinalis* a un cambio de comportamiento debido a una dieta nutricionalmente deficitaria.

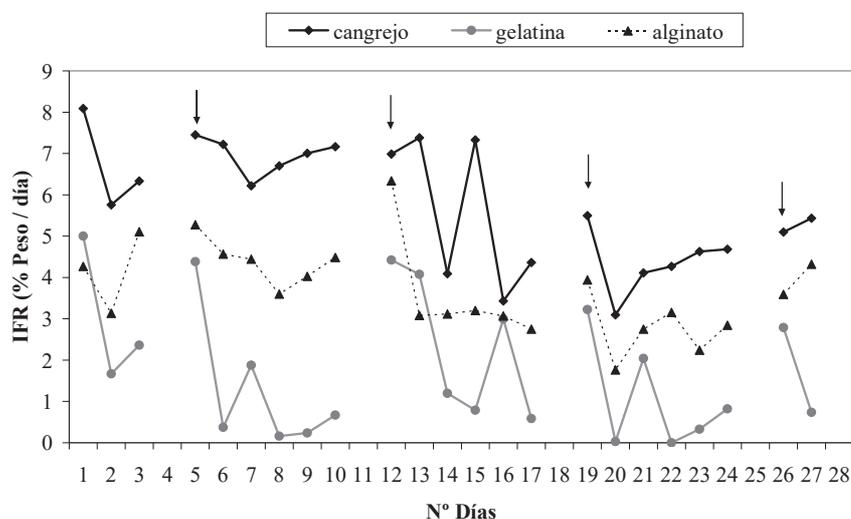


Figure 5. Variación en la tasa instantánea de alimentación (IFR) en los tres grupos experimentales de pulpo (C = Cangrejo; G = Gelatina; A = Alginato). Las flechas indican el día posterior al ayuno.

Otro aspecto relevante es la influencia de la dieta suministrada sobre el estado nutricional de los animales. Cabe resaltar las diferencias observadas en el contenido lipídico, las cuales se pueden atribuir exclusivamente a la glándula digestiva ya que los valores observados en la fracción EDG fueron similares. El contenido en lípidos de la GD de los animales alimentados con cangrejo duplicó a los grupos C y A. Esto se reflejó en una retención global del 23,6 % de los lípidos ingeridos para el primer grupo y tan sólo del 1,6 % para el último. Estos resultados sugieren un mejor aprovechamiento de los lípidos procedentes del cangrejo, lo que puede venir favorecido por la mayor digestibilidad de éstos (98 %) en comparación con los del pescado (93 %) (Mazón et al., 2007), como por diferencias existentes en los distintos tipos de lípidos de estos alimentos. Resultados similares obtuvieron García García y Cerezo Valverde (2006) con valores respectivos del LPV del 12,2 y 3,3 % para el cangrejo y la boga respectivamente, si bien parte de estos resultados podrían deberse también al menor contenido en lípidos del primero lo que podría haber favorecido su digestibilidad (Hernández and García García, 2004). Rosa et al., (2004) observaron en *O. vulgaris* que es precisamente en la glándula digestiva donde se encuentran los mayores niveles de lípidos, colesterol y ácidos grasos. Posteriormente, se comprobó que tanto el contenido en lípidos de la GD como su distribución en las diferentes clases varían con la especie y suelen ser un reflejo de su estrategia alimentaria (Rosa et al., 2005), siendo poco probable que los lípidos dietarios sufran modificaciones previas a su deposición (Phillips et al., 2001). Moltschaniwskyj & Johnston (2006) observaron en *Euprymna tasmanica* que la mayoría de los lípidos presentes en la GD eran componentes estructurales de las membranas (lípidos polares) o productos derivado de la digestión como esteroides o ácidos grasos libres, con bajos niveles de lípidos de reserva. Además, los animales de esta misma especie que crecieron más mostraron también menores niveles de esteroides en la GD sugiriendo que podrían estar siendo liberados para el crecimiento. Por lo tanto, en el futuro diseño de dietas artificiales se deberían tener en cuenta tanto el contenido de lípidos como sus clases. Probablemente, debido a la baja capacidad de catabolizar lípidos de los cefalópodos (Mommensen and Hochachka, 1981; O'Dor et al., 1984) podrían ser más relevantes los ácidos grasos esenciales, colesterol y fosfolípidos (Rosa et al., 2005).

De forma similar ocurrió con el contenido en proteína, con diferencias exclusivamente a nivel de la GD. Los animales alimentados con el pienso G fueron los únicos que mostraron menores niveles de proteína respecto de los controles ($P < 0,05$) así como valores negativos del LPV. Al igual que lo ocurrido en situaciones de ayuno, donde los cefalópodos pueden movilizar lípidos y aminoácidos procedentes de la glándula digestiva (O'Dor et al., 1984; O'Dor and Wells, 1987; Castro et al., 1992), seguramente una dieta deficitaria provoque un efecto similar. Resultados previos obtenidos por Domínguez et al. (2005) también demostraron en *Sepia* sp. alimentadas con una dieta artificial una menor concentración de aminoácidos en la GD, particularmente esenciales, respecto de las alimentadas con dietas naturales, destacando también la importancia de un balance apropiado de aminoácidos.

Los minerales también deben jugar un papel clave en las dietas artificiales. A pesar de que no observamos diferencias en el contenido mineral de la GD se comprobó que los controles presentaban niveles más altos respecto de los grupos restantes en la fracción EDG. Resultados parecidos observaron García García, con valores mayores de minerales en los controles iniciales (2,41 %) respecto de aquellos alimentados con cangrejo o boga (2,23 %). Estos resultados se podrían atribuir a una mayor relación pico/peso total en los controles iniciales, los cuales son a su vez ejemplares más pequeños. En cualquier caso, los requerimientos de minerales en cefalópodos son mal conocidos, aunque con evidencias de la importancia de algunos como el cobre (Castro et al., 1993), estroncio (Hanlon et al., 1989), calcio y azufre (Villanueva y Bustamante, 2006).

Los animales alimentados con cangrejo también mostraron mayores valores del DGI respecto de los grupos alimentados con pienso. Al igual que en *Sepia* (Castro et al., 1994) el DGI podría ser empleado como un indicador del estado de condición. De hecho, tanto en nuestros resultados como en los de ese autor existió una correlación positiva entre la tasa de crecimiento y DGI. Estos autores observaron además un incremento de este índice tras una realimentación con dietas naturales posterior al suministro de las artificiales. Moltschaniwskyj & Johnston (2006) resaltan la importancia de tomar este índice con precaución y en función de la especie considerada.

Por lo tanto, los resultados obtenidos generan un amplio abanico de interrogantes que pueden ser claves en la aceptabilidad de estos piensos. El formato de pienso propuesto podrá ser empleado para generar otros piensos de composición conocida y avanzar así en el conocimiento de los requerimientos nutritivos de esta especie.

2.3.3.2. Efecto de la suplementación con colesterol y complejo vitamínico-mineral en dietas formuladas para el engorde del pulpo de roca (*Octopus vulgaris*).

IMIDA, C.A de Murcia.

Se probaron seis dietas experimentales diferentes. En un primer ensayo (GE) se emplearon tres dietas formuladas en ensayos anteriores que presentaban distintos contenidos en glutamato (0, 0,5 y 2 %) y con nivel de grasa alta (11-13 %), pero en este caso suplementándolas con un 1 % de colesterol y un 4 % de complejo vitamínico-mineral suministrado por una casa comercial. Las tres dietas se administraron a tres grupos de entre 4 y 6 animales de 1400-1500 g de peso durante un mes. En ninguno de los tres grupos experimentales la tasa de ingesta diaria superó el 0.5 %/día, observándose en todos ellos un crecimiento e índices de eficacia alimentaria negativos. Para dilucidar cual de los nuevos ingredientes suplementados produjo el rechazo del pienso se diseñó un segundo experimento para comprobar el efecto independiente de la suplementación con colesterol o complejo vitamínico-mineral. Con este fin se elaboraron tres dietas, todas ellas manteniendo un 2 % en peso de glutamato, por los resultados satisfactorios que produjo en pruebas anteriores: 1) dieta control sin suplementación de colesterol ni complejo vitamínico (GLU2); 2) dieta suplementada con un 1 % de colesterol (GLU2-COL); y 3) dieta con un 4 % de complejo vitamínico mineral (GLU2-MIN). Las dietas se administraron a pulpos de 674-703 g durante 45 días. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 12.

No existieron diferencias significativas entre las tasa relativas de alimentación de los grupos GLU2 (3.41 %/día) y GLU2-COL (2.95 %/día), sin embargo ambas fueron significativamente superiores ($P < 0,05$) respecto del grupo GLU2-MIN (0.51 %/día). De igual forma sucedió con las tasas de crecimiento y los índices de aprovechamiento nutritivo de la dieta, observándose valores negativos en el grupo GLU2-MIN. El mejor crecimiento, eficacia alimentaria y valores productivos de la proteína y de la grasa se observaron en el grupo GLU2-COL, aunque las diferencias no llegaron a ser significativas respecto del grupo GLU2. En cuanto a la composición nutritiva de los pulpos cabe destacar el elevado porcentaje de grasa en la glándula digestiva de los ejemplares GLU2-COL (19.81 %) respecto de los grupos GLU2 (11.65 %) y GLU2-MIN (3.27 %), con diferencias significativas entre grupos ($P < 0,05$). De igual forma el contenido proteico de la glándula digestiva también fue significativamente superior en el grupo GLU2-COL respecto de los otros dos grupos. En cuanto a la composición de la carcasa resalta el bajo contenido proteico del grupo GLU2-MIN (14,86 %) en comparación con los grupos GLU2 (16,86 %) y GLU2-COL (16,27 %) (ANOVA; $P < 0,05$), sin que existieran diferencias en el contenido lipídico de esta. Los resultados obtenidos revelan por lo tanto que la adición del complejo vitamínico- mineral en los piensos produce rechazo, disminución en la ingesta y crecimientos negativos. Por el contrario la suplementación con un 1 % de colesterol puede estimular el crecimiento, mejorando el aprovechamiento nutritivo de la dieta y el PPV. También provoca una mayor retención de grasa en la glándula digestiva. En general, los crecimientos negativos se relacionan con menores niveles de proteína en la carcasa y de grasa en la glándula digestiva de los pulpos (ver Figuras 8 y 9).

Tabla 1. Valores medios de cada índice para pulpos alimentados con piensos suplementados con un 2 % de glutamato (GLU2), y además un 1 % de colesterol (GLU2-COL) o un 4 % de complejo vitamínico-mineral (GLU2MIN).

DIETA		GLU2	GLU2-COL	GLU2-MIN
N		4	6	6
PI	g	702.75	674.83	691.50
PF	g	968.25	980.33	508.83
PM	g	835.50	827.58	600.17
IP	g	265.50	305.50	-182.67
TAA	g/día	28.19	24.16	3.00
TAAP	g/día	3.41	2.86	0.36
TAAL	g/día	1.95	2.61	0.26
TAR	%P/día	3.41	2.95	0.51
TCA	g/día	5.90	6.79	-4.06
TEC	%P/día	0.72	0.82	-0.69
IEA	%	20.87	27.62	-141.85
IC		4.85	3.85	-0.78*
DGI	%	3.64	4.18	1.64
HUM_GD	%	64.83	54.80	76.05
HUM_R	%	79.93	80.22	81.52
HUM	%	79.38	79.16	81.43
GRA_GD	%	11.65	19.81	3.27
GRA_R	%	0.18	0.17	0.21
GRA	%	0.60	1.00	0.26
PRO_GD	%	16.63	18.62	16.24
PRO_R	%	16.86	16.27	14.86
PRO	%	16.85	16.37	14.89
CEN_GD	%	1.75	1.45	2.44
CEN_R	%	2.17	2.29	2.30
CEN	%	2.16	2.26	2.31
MELN_GD	%	5.14	5.32	2.00
MELN_R	%	0.85	1.05	1.10
MELN	%	1.01	1.22	1.12
PPV	%	36.95	44.66	-183.28*
LPV	%	3.90	6.34	-8.29*

PI = Peso medio inicial; PF = Peso medio final; PM = Peso medio en el período experimental; IP = Incremento de peso; TAA = Tasa de Alimentación Absoluta; TAAP = Tasa absoluta de alimentación de proteína; TAAL = Tasa absoluta de alimentación de lípidos; TAR = Tasa de Alimentación Relativa; TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto; TEC = Tasa Específica de Crecimiento; IEA = Índice de Eficacia Alimentaria; IC = Índice de conversión; DGI = Índice de la glándula digestiva; HUM_GD = Humedad de la glándula digestiva; HUM_R = Humedad en la carcasa; HUM = Humedad en el animal completo; GRA_GD = Grasa de la glándula digestiva; GRA_R = Grasa en la carcasa; GRA = Grasa en el animal completo; PRO_GD = Proteína en la glándula digestiva; PRO_R = Proteína en la carcasa; PRO = Proteína en el animal completo; CEN_GD = Cenizas de la glándula digestiva; CEN_R = Cenizas en la carcasa; CEN = Cenizas en el animal completo; MELN_GD = Material extraíble libre de nitrógeno de la glándula digestiva; MELN_R = Material extraíble libre de nitrógeno en la carcasa; MELN = Material extraíble libre de nitrógeno en el animal completo; PPV = Valor productivo de la proteína; LPV = Valor productivo de la grasa.

*Valores enmascarados por ejemplares con valores negativos o crecimiento muy bajo.

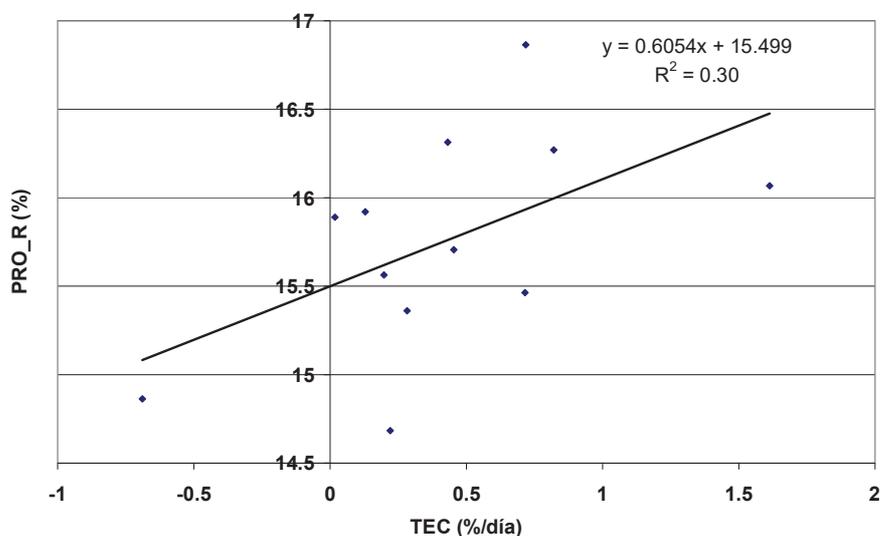


Figura 1. Relación entre el contenido en proteína de la carcasa (PRO_R) de ejemplares de pulpo y la tasa de crecimiento específica (TEC). Cada punto representa el valor medio de un grupo de cuatro a seis ejemplares de pulpo alimentados con distintas dietas experimentales.

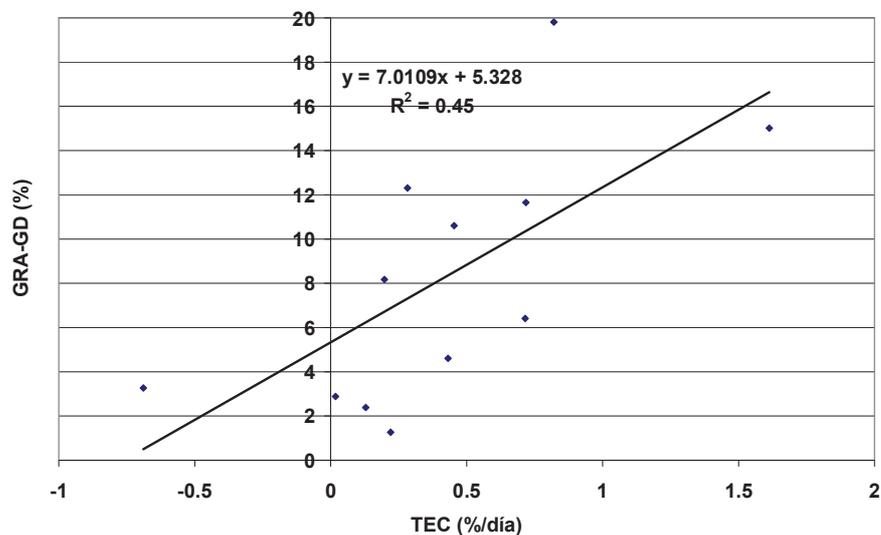


Figura 2. Relación entre el contenido de grasa de la glándula digestiva (GRA_GD) de ejemplares de pulpo y la tasa de crecimiento específica (TEC). Cada punto representa el valor medio de un grupo de cuatro a seis ejemplares de pulpo alimentados con distintas dietas experimentales.

Por lo tanto, con los resultados obtenidos se puede concluir que con los piensos formulados se han conseguido tasas de ingesta similares o superiores a las obtenidas con pescado e inferiores a las observadas con crustáceos. El crecimiento observado con los piensos ha representado el 50 % del obtenido con crustáceos y el 75 % del obtenido con pescado, observando que la adición de

glutamato al 2 % no estimula significativamente la ingesta, pero mejora el crecimiento, la eficacia alimentaria y el aprovechamiento de la proteína. Por otro lado, la adición del complejo vitamínico-mineral utilizado en los piensos produce rechazo, disminución en la ingesta y crecimientos negativos, si bien la adición de un 1 % de colesterol puede estimular el crecimiento, mejorando el aprovechamiento nutritivo de la dieta.

2.3.3.3. Rendimiento de dietas formuladas con distintos niveles de grasa y suplementación de glutamato en el pulpo de roca (*Octopus vulgaris*).

IMIDA, C.A. DE Murcia.

Resumen

La ausencia de dietas formuladas con rendimientos satisfactorios es uno de los principales inconvenientes para la producción del pulpo común *Octopus vulgaris* a escala comercial. En este trabajo se ha comparado el crecimiento, aprovechamiento nutritivo de la dieta y composición nutricional de pulpos (700-890 g; 17,5-18,5 °C) alimentados durante un mes con dietas formuladas con niveles bajos (GB: 0,8 %) y altos de grasa (GA: 8,4 %), y cada una de ellas con tres grados de suplementación de glutamato en forma cristalina (0, 0,5 % y 2 % del total del pienso). Los piensos experimentales fueron aceptados por los animales, con tasas relativas de alimentación del 2,48-2,64 %P/día para el nivel GB y de 1,86-2,01 %P/día para el GA, existiendo diferencias significativas según el nivel de grasa ($P < 0,05$), pero no para el contenido en glutamato. El contenido de grasa en la dieta no afectó a las tasas de crecimiento pero se relacionó con un mejor índice de eficacia alimentaria (0,8-15,5 % para GB y 14,6-23,8 % para GA; $P < 0,05$). Para los dos niveles de grasa, los mejores crecimientos, índices de eficacia alimentaria y valores productivos de la proteína se alcanzaron con el 2 % de suplementación de glutamato (3,59-4,02 g/día, 15,53-23,85 % y 25,46-27,40 %, respectivamente), existiendo una correlación positiva y significativa entre estos índices y el grado de suplementación para el ensayo GB ($P < 0,05$) pero no para el GA. Las mayores tasas de ingesta lipídica y de proteína se relacionaron con mayores porcentajes de ambos macronutrientes en la glándula digestiva ($P < 0,01$) pero no en la carcasa. Los resultados sugieren la necesidad de un contenido mínimo de lípidos (> 1 %) para lograr un rendimiento óptimo de la dieta y la proteína ingerida, así como la capacidad de aprovechamiento del glutamato suplementado hasta un 2 % en la dieta.

1. Introducción

El éxito en el desarrollo de la mayoría de especies en el sector de la acuicultura requiere de una dieta formulada, tal y como es evidente en las especies de peces que se producen actualmente como la dorada, la lubina o el rodaballo (Cho y Bureau, 2001; Davies et al., 2009). En el caso de los cefalópodos, la elaboración de dietas de apropiada composición nutritiva con rendimientos satisfactorios se encuentra aún en su fase incipiente, siendo éste uno de los principales inconvenientes para su producción a escala comercial (Lee, 1994; Vaz-Pires et al., 2004; Domingues et al., 2007).

Entre las distintas especies de cefalópodos, el pulpo común *Octopus vulgaris* ha despertado gran interés por sus características biológicas y elevado precio de mercado (Vaz-Pires et al., 2004), destacando altas tasas de fecundidad (Mangold, 1983), rápido crecimiento y elevada eficacia en la conversión de alimento (Mangold y Boletzky, 1973; Aguado Giménez y García García, 2002). En esta especie, la ausencia de dietas formuladas unido a la imposibilidad de obtener juveniles en cautividad con tasas de supervivencia adecuadas (Navarro y Villanueva, 2003; Iglesias et al., 2004,

2007) implica un sistema productivo actual basado en la captura de subadultos del medio natural y su posterior engorde con pescado o crustáceos de bajo valor comercial (Chapela et al., 2006; Rodríguez et al., 2006; García García et al., 2009), siendo todavía una actividad poco rentable (García García et al., 2004).

Aunque experimentalmente se han hecho esfuerzos para preparar dietas formuladas para cefalópodos, tales como la sepia y el pulpo, los trabajos publicados hasta 2008 revelan pobres tasas de ingesta y crecimiento, distando de los resultados obtenidos con dietas naturales (Lee et al., 1991; Castro et al., 1993; Castro y Lee, 1994; Domingues et al., 2005, 2007; Aguila et al., 2007; Rosas et al., 2007). Estos resultados se han atribuido en unos casos a la baja palatabilidad de las dietas y, en el caso de que fueran ingeridas, a una composición nutricional deficitaria. No obstante, recientemente, varios grupos de investigación han obtenido formatos de pienso que han sido aceptados por los pulpos, generando además crecimientos significativos (Cerezo Valverde et al., 2008; Quintana et al., 2008; Rosas et al., 2008). Todos estos tienen en común la utilización de una pasta de pescado, crustáceos o moluscos mezclada con distintos tipos de aglomerantes (alginatos o gelatinas), resultando finalmente en un pienso de tipo húmedo (> 70 % de agua) pero con una textura apropiada para su manipulación e ingestión. Los rendimientos obtenidos con estas dietas son dispares y han variado según el tipo de aglomerante, los ingredientes utilizados, la forma de elaboración e incluso la especie considerada. En todo caso, este tipo de piensos de composición conocida pueden ser utilizados como vehículo de nutrientes específicos y así avanzar en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de los cefalópodos.

Hasta la fecha, la mayoría de las hipótesis sobre estos requerimientos se han generado al suministrar dietas naturales y a partir de los análisis bioquímicos de éstas y de los propios cefalópodos. Tanto la cantidad como el tipo de lípidos (Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Koueta et al., 2002; García García y Aguado Giménez, 2002; Rosa et al., 2005; García García y Cerezo Valverde, 2006; Moltschaniwskyj y Johnston, 2006; Petza et al., 2006), así como un balance apropiado de aminoácidos (Lee, 1994; Villanueva et al., 2004; Domínguez et al., 2005) se han sugerido como factores clave en el desarrollo de estos piensos.

En el presente trabajo se aprovechan los formatos de pienso previamente aceptados por los pulpos, con el objetivo de comparar el rendimiento (crecimiento, aprovechamiento de la dieta y composición nutritiva de los animales) al suministrar dietas formuladas con niveles bajos y altos de grasa, y distintos grados de suplementación en glutamato, aminoácido más abundante en cefalópodos y las dietas naturales que usualmente consumen (Zdzislaw et al., 1994; Villanueva et al., 2004; Cerezo Valverde et al., 2009).

2. Material y Métodos

2.1. Animales de experimentación y mantenimiento

Los pulpos (*Octopus vulgaris*) se capturaron en el mar Mediterráneo (Murcia, S.E. España) y se mantuvieron en tanques de 2000 l en las instalaciones experimentales. Los ensayos comenzaron cuando los animales se aclimataron, aproximadamente dos semanas después, comprobándose que se alimentaban de forma regular con la ración calculada según García García y Cerezo Valverde (2006). Durante este período los animales fueron alimentados con boga (*Boops boops*) y cangrejo (*Carcinus mediterraneus*) en días alternativos. Posteriormente, los animales se trasladaron y se mantuvieron individualmente en tanques circulares de 216 l para llevar a cabo los

ensayos. Éstos contenían tubos de PVC como refugio, y estaban mantenidos en un sistema de recirculación de agua con control de la temperatura, lámpara UV y sistemas de filtración mecánica y biológica. El fotoperíodo fue de 12L:12D, la temperatura entre 17 y 20 °C - dentro del rango óptimo para esta especie según Aguado Giménez y García García, 2002 -, oxígeno superior al 80 % de saturación para que este factor no fuera limitante (Cerezo Valverde y García García, 2005), salinidad 37 ‰, pH entre 7 y 8 y nitrógeno amoniacal total (TAN) inferior a 0,2 mg/l.

2.2. Diseño experimental

Se llevaron a cabo dos ensayos de 29 días de duración, empleando en el primero una dieta formulada baja en grasa (GB, Dic 07) y en el segundo otra rica en grasa (GA, Feb 08). A su vez, cada una de estas dietas fue suplementada con tres grados diferentes de glutamato en forma cristalina (0, 0,5 y 2 % del total de la dieta). En cada ensayo se emplearon 16 ejemplares aislados y distribuidos en tres grupos experimentales: GB-0 (N = 4), GB-0,5 (N = 6) y GB-2 (N = 6); GA-0 (N = 4), GA-0,5 (N = 6) y GA-2 (N = 6). Los pesos y las temperaturas oscilaron entre 645 y 1096 g y 16,5 y 19,6 °C ($17,5 \pm 1,4$ °C) en el ensayo GB, y entre 592 y 825 g y 17,6 y 19,4 °C ($18,5 \pm 0,4$ °C) en el GA. Todas las dietas se administraron a saciedad seis días a la semana y a primera hora de la mañana (9:00), recogiendo el alimento entre 4 y 5 horas después (13:00-14:00). El alimento sobrante se secó y pesó para calcular la ingesta diaria.

2.3. Elaboración y estabilidad en agua de los piensos formulados

Se formularon seis piensos diferentes empleando alginato como aglomerante y cuya composición porcentual se muestra en la Tabla 1. Para su elaboración se preparó una papilla de alginato de sodio (65 g de producto comercial POKEL MERL® en 1 litro de agua), mezclándose con pasta de pescado (*Boops boops*) y pasta de langostino (*Hymenopenaeus muelleri*), previamente triturados y limpios de espinas o caparazones, y la cantidad de glutamato (Sodio L-Glutamato 1-Hidrato, PANREAC) acorde a su grado de suplementación, empleando para ello una batidora-mezcladora. En el ensayo GB se empleó *Boops boops* procedente de pesquerías artesanales y con bajo nivel de lípidos (2,2 %), y en el ensayo GA se empleó la misma especie pero procedente del descarte de granjas marinas y con elevado contenido en lípidos (17,6 %). Las proporciones de papilla de alginato se mantuvieron en un 30 % para las dietas sin glutamato (GB-0 y GA-0), 29,5 % para las suplementadas con un 0,5 % de glutamato (GB-0,5 y GA-0,5), y un 28 % para aquellas con un 2 % de glutamato (GB-2 y GA-2). Posteriormente, se adicionó una disolución de sulfato cálcico (10 g de producto comercial POKEL CALS® por cada 100 ml de agua) a razón de un 10 % del total del pienso para endurecer la mezcla. Después de homogeneizar el preparado se colocó en bandejas de plástico y se introdujeron 24 horas en frío a 4 °C. Finalmente, los piensos se cortaron en trozos cuadrados de unos 3 x 3 cm y se congelaron hasta su uso.

La estabilidad de los piensos en agua se valoró determinando el peso de cinco muestras antes y después de introducirlas en agua durante 4 y 24 horas. Posteriormente, se calcularon para cada uno de los piensos los valores medios de los dos índices siguientes:

$VP (\%) = (p_f - p_i) / p_i * 100$, que expresa la variación del peso del pienso en porcentaje después de sumergirlo en el agua, y donde p_i y p_f representan el peso de la muestra de pienso antes y después de sumergirlo, respectivamente.

$F = p_i/p_f$, que representa un factor de corrección. El peso del pienso no ingerido se multiplicó por este factor para tener en cuenta la absorción de agua o su disgregación con el fin de corregir el cambio en su peso.

Tabla 1. Composición porcentual (%) de los ingredientes en las dietas formuladas.

Dieta	Agua destilada ¹	Alginato sódico ²	Sulfato cálcico ³	Glutamato sódico ⁴	Pasta de pescado ⁵	Pasta de langostino ⁶
Grasa baja						
GB-0	37,3	1,8	0,9	0,0	50,0	10,0
GB-0,5	36,8	1,8	0,9	0,5	50,0	10,0
GB-2	35,4	1,7	0,9	2,0	50,0	10,0
Grasa alta						
GA-0	37,3	1,8	0,9	0,0	50,0	10,0
GA-0,5	36,8	1,8	0,9	0,5	50,0	10,0
GA-2	35,4	1,7	0,9	2,0	50,0	10,0

¹Empleada en la elaboración de papilla de alginato y disolución de calcio.

²Para elaboración de papilla de alginato (65 g de producto comercial Pokel Merl* en 1 litro de agua).

³Para elaboración de disolución de calcio (1 g de producto comercial Pokel Cals* en 10 ml de agua).

⁴Sodio L-Glutamato 1-Hidrato (PANREAC).

⁵*Boops boops*, porción comestible.

⁶*Hymenopenaeus muelleri*, porción comestible.

*Pokel Merl y Pokel Cals proporcionado por Productos Sur, S.A. (Pol. Ind. Oeste, San Ginés, Murcia, España).

2.4. Análisis bioquímicos

La composición corporal (humedad, proteína, lípidos y minerales) fue analizada en 3 pulpos al inicio de los ensayos (control inicial) y en todos los pulpos al finalizarlos. Para los análisis todos los animales se dividieron en dos fracciones, la carcasa que incluía el animal completo excluyendo la glándula digestiva (EDG), y por otro lado la glándula digestiva (DG). Se picaron y trituraron de forma separada hasta obtener una mezcla homogénea. La composición corporal total (TBC) también fue calculada a partir de los valores de EDG y DG de acuerdo con la ecuación:

$TBC (\%) = (EDGW \cdot (EDG/100) + DGW \cdot (DG/100)) / (BW) \cdot 100$, donde TBC, EDG y DG son respectivamente los porcentajes del macronutriente en el animal completo, el animal sin la glándula digestiva y en la glándula digestiva; BW, EDGW, DGW son respectivamente los pesos del animal completo, sin la glándula digestiva, y de la glándula digestiva. La composición nutritiva de los piensos fue también analizada.

Se empleó 1 g de muestra para la determinación de la humedad, proteína y cenizas, y 2 g para el caso de los lípidos, llevándose a cabo los análisis por triplicado. El contenido en proteína bruta se determinó por el método Kjeldhal usando un factor de conversión de 6,25 (AOAC, 1997; Método n.º. 954.01). La grasa bruta se obtuvo mediante eter etílico en un extractor SOXTEC AVANTI 2058 (AOAC, 1997; Método n.º 920.39). La humedad se obtuvo por desecación (105 ± 1 °C, 24 h) hasta peso constante en estufa KOWELL D2 NOVA (AOAC, 1997; Método n.º. 930.15), y los minerales totales por incineración hasta peso constante (450 ± 1 °C, 24 h) en un horno MUFLA HOBERSAL, HD-230 (AOAC, 1997; Método n.º 942.05). La energía bruta y la relación proteína

energía (P/E en g/MJ) se estimaron usando los coeficientes energéticos según Miglavs y Jobling (1989): proteína 23.6 kJ/g, lípidos 38.9 kJ/g y carbohidratos 16,7 kJ/g.

2.5 Parámetros calculados y análisis de los datos

Todos los ejemplares se pesaron al inicio y al final de los ensayos, calculándose para cada uno los siguientes índices:

Incremento de peso: $IP = Pf - Pi$; Tasa de alimentación absoluta: $TAA = IF/t$; Tasa de alimentación relativa: $TAR = TAA \cdot 100/Pm$; Tasa de alimentación absoluta de proteína: $TAAP = IPR/t$; Tasa de alimentación absoluta de lípidos = $TAAL = IL/t$; Tasa de crecimiento absoluto: $TCA = IP/t$; Tasa específica de crecimiento: $TEC = ((\ln(Pf) - \ln(Pi)) \cdot 100 / t)$; Índice de eficacia alimentaria: $IEA = IP \cdot 100 / IF$; Valor productivo de la proteína: $PPV = \text{prot. retenida} \cdot 100 / IPR$; Valor productivo de la grasa: $LPV = (\text{grasa. retenida} \cdot 100 / IL)$; Índice de la glándula digestiva: $DGI = ((DGW/Pf) \cdot 100)$; donde Pi = Peso inicial en g; Pf = Peso final en g; Pm = Peso medio entre muestreos en g; t = tiempo en días; IF = alimento ingerido en gramos (alimento suministrado - alimento sobrante $\cdot F$, con los valores de F reflejados en la Tabla 2 para los distintos piensos); IPR = proteína ingerida en g; IL ingesta de lípidos en g; DGW = peso de la glándula digestiva.

El efecto del nivel de grasa y suplementación de glutamato sobre los índices calculados se analizó mediante ANOVA de dos vías y la significación de las diferencias de sus valores medios con el test de Tukey HSD para número desigual de muestras. Se llevó a cabo una transformación en logaritmos neperianos de los índices y porcentajes previa al ANOVA. Se obtuvieron los coeficientes de correlación (r) entre el grado de suplementación de glutamato y los índices calculados, estableciendo un nivel de significación $P < 0,05$.

3. Resultados

Todos los piensos elaborados mostraron una textura firme antes de introducirlos en el agua, no obstante, una vez sumergidos, los tres piensos con bajo contenido en grasa (GB) fueron menos estables que aquellos con mayor contenido en grasa (GA). En la Tabla 2 se puede observar como los piensos GB perdieron entre un 17 y un 25 % de su peso después de 24 horas sumergidos, mientras que los piensos GA prácticamente no sufrieron modificación en su peso. El contenido lipídico de los piensos GA osciló entre el 8 y 9 %, mientras que en los piensos GB no superó el 1%. Como consecuencia, los piensos GA duplicaron el contenido energético respecto de los piensos GB, presentando menor humedad y relación proteína/energía. Considerando todos los piensos, el contenido en proteína osciló entre el 12-15 %, observándose un incremento acorde a la suplementación de glutamato (Tabla 3).

Al inicio de los ensayos no existieron diferencias significativas entre los pesos medios de los distintos grupos experimentales. Todos los pulpos aceptaron el pienso, registrándose una supervivencia del 100 %. La dieta GB mostró una mejor aceptabilidad que la GA por parte de los pulpos, reflejándose de forma significativa en mayores tasas de alimentación (TAA, TAAP y TAR; $P < 0,001$). A pesar de ello no se produjeron diferencias en el crecimiento (IP, TCA o TEC) como consecuencia del nivel de grasa en la dieta, deduciéndose un aprovechamiento mejor de la dieta GA (IEA entre el 14,65 y 23,85 %), respecto de la dieta GB (IEA entre 0,83-15,53 %; $P < 0,05$). La alta variabilidad observada para la retención de proteína (PPV) y de grasa (LPV) no permitió detectar diferencias significativas entre los grupos experimentales para ninguno de los dos factores

considerados. No obstante, es destacable que los valores de PPV en los grupos GA-0 (14,99 %) y GA-0,5 (21,49 %) duplicaran a sus homólogos GB-0 (6,63 %) y GB-0,5 (10,41 %). Por el contrario, fueron los grupos GA-0,5 y GA-2 los que mostraron menores valores de LPV (1,49 y 2,69 %, respectivamente) respecto de los grupos GB-0,5 (5,78 %) y GB-2 (18,85 %). Para los dos niveles de grasa establecidos, los mejores crecimientos (IP, TCA y TEC) y aprovechamientos de la dieta (IEA y PPV) se observaron en los grupos alimentados con mayor grado de suplementación en glutamato (2 %), si bien las diferencias sólo fueron significativas para el IP y TCA entre los grupos GB-0 y GB-2 ($P < 0,05$). Los coeficientes de correlación entre el grado de suplementación en glutamato y los índices IP, TCA, TEC, IEA y PPV fueron positivos y significativos ($P < 0,05$) para el ensayo GB pero no para el GA (Tabla 5). Ni el contenido lipídico ni el grado de suplementación de glutamato afectaron de forma significativa al DGI (Tabla 4).

Tabla 2. Resultados de la prueba de estabilidad en agua para las dietas formuladas.

Dieta	4 horas en agua		24 horas en agua	
	VP (%) ^a	F ^b	VP (%) ^a	F ^b
Grasa baja				
GB-0	-3,33	1,03	-17,20	1,21
GB-0,5	-4,10	1,04	-23,97	1,32
GB-2	-9,19	1,10	-24,45	1,32
Grasa alta				
GA-0	3,17	0,97	-0,38	1,00
GA-0,5	3,36	0,97	1,15	0,99
GA-2	2,59	0,97	1,06	0,99

^aVariación media del peso del pienso (% después de la inmersión).

^bFactor de corrección para el cálculo de la ingesta real.

Tabla 3. Composición nutricional de las dietas formuladas expresada en peso húmedo.

Dieta	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	M.E.L.N. ¹ (%)	Energía (kJ/100 g)	P/E ² (g/MJ)
Grasa baja							
GB-0	82,04	13,28	0,91	2,80	0,97	365,01	36,38
GB-0,5	81,66	14,17	0,78	3,07	0,32	370,10	38,29
GB-2	79,21	14,63	0,81	3,13	2,22	413,85	35,35
Grasa alta							
GA-0	74,40	12,02	8,40	2,25	2,93	659,36	18,23
GA-0,5	72,39	12,55	8,38	2,28	4,40	695,64	18,04
GA-2	72,18	14,33	8,34	2,42	2,73	708,21	20,23

¹M.E.L.N. = Material extraíble libre de nitrógeno.

²P/E = Relación proteína/energía. Proteína 23.6 kJ/g, lípidos 38.9 kJ/g y carbohidratos 16,7 kJ/g según Miglavs y Jobling (1989).

En referencia a la composición nutricional, los grupos control inicial de ambos ensayos (GB y GA) presentaron valores similares para todos los macronutrientes analizados con excepción del MELN, con valores menores para el ensayo GB (5,67 %) respecto del GA (7,04 %; $P < 0,05$; Tabla

6). Las diferencias más relevantes entre la composición nutricional de los controles iniciales, antes de suministrar las dietas formuladas, y los grupos experimentales, al finalizar los ensayos, residieron a nivel de la glándula digestiva (Tabla 7), destacando el elevado porcentaje de lípidos de este órgano en todos los grupos del ensayo GA (8,17-12,30 %) en comparación con los valores iniciales (2,42 %; $P < 0,05$).

Los animales alimentados con la dieta GB presentaron mayores porcentajes de proteína en la TBC (16,04-16,47 %) que los alimentados con la dieta GA (15,41-15,77 %), atribuyéndose a la mayor contribución de la proteína de la GD de los primeros (20,11-20,84 % para GB y 17,05-17,87 % para GA; $P < 0,05$) y no de la fracción EDG ($P > 0,05$). Por el contrario, el contenido lipídico en la TBC fue mayor en los grupos del ensayo GA, con valores significativamente superiores en el grupo GA-0 (0,78 %) respecto de todos los grupos del ensayo GB (0,36-0,44 %; Tabla 7). Igualmente, la contribución de la glándula digestiva fue decisiva, con valores muy superiores en los animales alimentados con la dieta GA (8,17-12,30 %) respecto de los que consumieron la dieta GB (2,88-4,60 %; $P < 0,001$). El contenido de agua mostró un patrón inverso al de lípidos, especialmente a nivel de la GD, donde los grupos del ensayo GB mostraron porcentajes superiores (67,37-69,61 %) a los observados en el ensayo GA (62,89-68,41 %; $P < 0,001$). Los grupos alimentados con la dieta GB presentaron mayores porcentajes de minerales en la TBC, en este caso atribuible a los mayores valores de la fracción EDG (2,27-2,30 % para GB y 2,12-2,16 % para GA; $P < 0,01$), sin que se observaran diferencias a nivel de la GD.

El grado de suplementación en glutamato no afectó a ninguno de los macronutrientes analizados en la TBC. A nivel de la fracción EDG se observó un menor porcentaje de grasa en el grupo GA-2 (0,13 %; $P < 0,05$). En el caso de la GD y exclusivamente en el ensayo GB, se detectó un mayor porcentaje de grasa en el grupo con mayor grado de suplementación (4,60 % para el grupo GB-2; $P < 0,05$). Ni el nivel de grasa ni el de glutamato en la dieta afectaron significativamente al MELN en ninguna de las fracciones analizadas.

Tabla 4. Valores medios y desviación estándar para los índices calculados de los distintos grupos experimentales.

Dieta	Grasa baja			Grasa alta			ANOVA	
	GB-0	GB-0,5	GB-2	GA-0	GA-0,5	GA-2	1	2
N	4	6	6	4	6	6		
Pi	g	889 ± 108 ^a	859 ± 180 ^{ab}	853 ± 114 ^{ab}	700 ± 73 ^b	715 ± 91 ^b		
Pf	g	893 ± 99 ^{ab}	898 ± 215 ^{ab}	970 ± 157 ^a	758 ± 87 ^b	758 ± 117 ^b	(*)	(ns)
IP	g	4 ± 43 ^a	39 ± 91 ^{ab}	117 ± 89 ^b	58 ± 43 ^{ab}	43 ± 114 ^{ab}	(ns)	(*)
TAA	g/día	22.07 ± 2.55 ^a	22.32 ± 5.26 ^a	23.99 ± 4.87 ^a	13.51 ± 1.71 ^b	14.06 ± 4.75 ^b	(***)	(ns)
TAAP	g/día	2.93 ± 0.34 ^{ab}	3.16 ± 0.75 ^a	3.51 ± 0.71 ^a	1.85 ± 0.23 ^c	1.83 ± 0.62 ^c	(***)	(ns)
TAAL	g/día	0.19 ± 0.02 ^a	0.20 ± 0.05 ^a	0.21 ± 0.04 ^a	1.18 ± 0.15 ^b	1.18 ± 0.39 ^b	(****)	(ns)
TAR	%P/día	2.48 ± 0.11 ^{ab}	2.56 ± 0.35 ^a	2.64 ± 0.38 ^a	1.86 ± 0.18 ^{bc}	1.89 ± 0.51 ^c	(****)	(ns)
TCA	g/día	0.13 ± 1.50 ^a	1.35 ± 3.12 ^{ab}	4.02 ± 3.08 ^b	2.08 ± 1.56 ^{ab}	1.54 ± 4.10 ^{ab}	(ns)	(*)
TEC	%P/día	0.02 ± 0.16	0.13 ± 0.36	0.43 ± 0.32	0.28 ± 0.20	0.20 ± 0.54	(ns)	(ns)
IEA	%	0.83 ± 6.71 ^a	4.16 ± 12.94 ^a	15.53 ± 11.65 ^{ab}	14.65 ± 10.81 ^{ab}	15.09 ± 21.96 ^{ab}	(*)	(ns)
PPV	%	6.63 ± 7.52	10.41 ± 17.93	25.46 ± 13.93	14.99 ± 9.25	21.49 ± 32.56	(ns)	(ns)
LPV	%	4.92 ± 16.47	5.78 ± 10.93	18.85 ± 20.08	9.78 ± 9.74	1.49 ± 6.69	(ns)	(ns)
DGI	%	3.41 ± 0.41	2.96 ± 0.35	3.44 ± 0.47	2.98 ± 0.41	2.82 ± 1.02	(ns)	(ns)

Valores en la misma fila con diferentes superíndices presentan diferencias significativas. ANOVA: 1: Efecto de la grasa; 2: Efecto del glutamato; 1*2: Interacción grasa*glutamato; ns = no significativo (P>0,05); (*)P<0,05; (**)P<0,01; (***)P<0,001; (****)P<0,0001; Pi = Peso inicial; Pf = Peso final; IP = Incremento de peso; TAA = Tasa de Alimentación Absoluta; TAAP = Tasa Absoluta de Alimentación de Proteína; TAAL = Tasa Absoluta de Alimentación de Lípidos; TAR = Tasa de Alimentación Relativa; TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto; TEC = Tasa Específica de Crecimiento; IEA = Índice de Eficacia Alimentaria; PPV = Valor Productivo de la Proteína; LPV = Valor Productivo de la Grasa; DGI = Índice de la glándula digestiva.

Tabla 5. Coeficientes de correlación simple (r) entre el grado de suplementación de glutamato y los índices de crecimiento y aprovechamiento nutritivo de la dieta calculados en los dos ensayos realizados.

Dieta	Grasa baja		Grasa alta	
	r	P<	r	P<
Pf	0.24	(ns)	0.20	(ns)
IP	0.52	(*)	0.23	(ns)
TAA	0.18	(ns)	0.13	(ns)
TAAP	0.34	(ns)	0.25	(ns)
TAAL	0.18	(ns)	0.24	(ns)
TAR	0.15	(ns)	0.06	(ns)
TCA	0.52	(*)	0.23	(ns)
TEC	0.51	(*)	0.21	(ns)
IEA	0.51	(*)	0.26	(ns)
PPV	0.53	(*)	0.27	(ns)
LPV	0.40	(ns)	-0.44	(ns)
DGI	0.20	(ns)	0.16	(ns)

ns = no significativo ($P > 0,05$); (*) $P < 0,05$

Pf = Peso final; IP = Incremento de peso; TAA = Tasa de Alimentación Absoluta; TAAP = Tasa Absoluta de Alimentación de Proteína; TAAL = Tasa Absoluta de Alimentación de Lípidos; TAR = Tasa de Alimentación Relativa; TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto; TEC = Tasa Específica de Crecimiento; IEA = Índice de Eficacia Alimentaria; PPV = Valor Productivo de la Proteína; LPV = Valor Productivo de la Grasa; DGI = Índice de la glándula digestiva.

Tabla 6. Peso corporal (P), índice de la glándula digestiva (DGI) y composición nutricional expresada en peso húmedo de los ejemplares enteros de *O. vulgaris* (TBC), excluyendo la glándula digestiva (EDG) y de la glándula digestiva (DG) correspondientes a los grupos control inicial, antes de suministrar las dietas formuladas.

Grupo	GB-Inicial	GA-Inicial	ANOVA
N	3	3	
P (g)	763 ± 16	720 ± 19	(*)
DGI (%)	3.51 ± 0.33	3.18 ± 0.53	(ns)
TBC			
Humedad (%)	80.43 ± 0.58	81.29 ± 0.89	(ns)
Proteína (%)	15.47 ± 0.63	14.85 ± 0.69	(ns)
Lípidos (%)	0.37 ± 0.04	0.33 ± 0.09	(ns)
Minerales (%)	2.17 ± 0.03	1.86 ± 0.29	(ns)
MELN ¹ (%)	1.56 ± 0.45	1.66 ± 0.48	(ns)
EDG			
Humedad (%)	80.75 ± 0.58	81.72 ± 1.02	(ns)
Proteína (%)	15.41 ± 0.64	14.69 ± 0.79	(ns)
Lípidos (%)	0.27 ± 0.07	0.26 ± 0.07	(ns)
Minerales (%)	2.16 ± 0.04	1.85 ± 0.29	(ns)
MELN ¹ (%)	1.41 ± 0.44	1.48 ± 0.53	(ns)
DG			
Humedad (%)	71.57 ± 0.71	68.59 ± 1.98	(ns)
Proteína (%)	17.18 ± 0.58	19.69 ± 1.88	(ns)
Lípidos (%)	3.19 ± 0.76	2.42 ± 0.93	(ns)
Minerales (%)	2.38 ± 0.35	2.26 ± 0.19	(ns)
MELN ¹ (%)	5.67 ± 0.39	7.04 ± 0.16	(*)

ns = no significativo (P>0,05); (*)P<0,05

¹MELN = Material extraíble libre de nitrógeno.

Tabla 7. Composición nutricional expresada en peso húmedo de los ejemplares enteros de *O. vulgaris* (TBC), excluyendo la glándula digestiva (EDG) y de la glándula digestiva (DG) de cada grupo experimental.

Dieta	Grasa baja						Grasa alta						ANOVA		
	GB-0		GB-0.5		GB-2		GA-0		GA-0.5		GA-2		1	2	1*2
	4	6	6	6	6	6	4	6	6	6	6				
TBC															
Humedad	79.92 ± 0.32	79.55 ± 0.99	79.22 ± 0.66	79.86 ± 1.03 ^{ab}	79.64 ± 0.65 ^a	80.30 ± 0.36 ^{ab}	79.98 ± 0.51	80.44 ± 0.20	80.82 ± 0.26 ^b	80.14 ± 0.97 ^{ab}	79.65 ± 0.99	(ns)	(ns)	(ns)	
Proteína	16.04 ± 0.79 ^{ab}	16.04 ± 0.74 ^{ab}	16.47 ± 0.86 ^a	15.92 ± 0.73	16.31 ± 0.86	15.89 ± 0.81	15.41 ± 0.81 ^b	15.53 ± 0.49 ^{ab}	15.56 ± 0.50	15.70 ± 0.71	15.77 ± 0.70 ^{ab}	(*)	(ns)	(ns)	
Lípidos	0.40 ± 0.08 ^a	0.36 ± 0.08 ^a	0.44 ± 0.09 ^a	0.30 ± 0.06 ^a	0.29 ± 0.03 ^a	0.31 ± 0.07 ^a	0.78 ± 0.46 ^b	0.46 ± 0.16 ^{ab}	0.20 ± 0.04 ^a	0.13 ± 0.04 ^b	0.47 ± 0.09 ^{ab}	(*)	(ns)	(ns)	
Cenizas	2.26 ± 0.07 ^a	2.30 ± 0.08 ^a	2.28 ± 0.06 ^a	2.30 ± 0.08 ^a	2.29 ± 0.05 ^a	2.27 ± 0.07 ^{ab}	2.12 ± 0.14 ^b	2.20 ± 0.09 ^{ab}	2.16 ± 0.14 ^{ab}	2.14 ± 0.17 ^{ab}	2.16 ± 0.15 ^{ab}	(**)	(ns)	(ns)	
MELN ¹	1.37 ± 0.70	1.73 ± 0.78	1.58 ± 0.66	1.62 ± 0.79	1.45 ± 0.72	1.23 ± 0.73	1.71 ± 0.68	1.36 ± 0.53	1.25 ± 0.53	1.89 ± 0.72	1.94 ± 0.72	(ns)	(ns)	(ns)	
EDG															
Humedad	80.30 ± 0.36 ^{ab}	79.86 ± 1.03 ^{ab}	79.64 ± 0.65 ^a	79.86 ± 1.03 ^{ab}	79.64 ± 0.65 ^a	80.30 ± 0.36 ^{ab}	80.50 ± 0.49 ^{ab}	80.82 ± 0.26 ^b	80.82 ± 0.26 ^b	80.14 ± 0.97 ^{ab}	80.14 ± 0.97 ^{ab}	(*)	(ns)	(ns)	
Proteína	15.89 ± 0.81	15.92 ± 0.73	16.31 ± 0.86	15.92 ± 0.73	16.31 ± 0.86	15.89 ± 0.81	15.36 ± 0.56	15.56 ± 0.50	15.56 ± 0.50	15.70 ± 0.71	15.70 ± 0.71	(ns)	(ns)	(ns)	
Lípidos	0.31 ± 0.07 ^a	0.30 ± 0.06 ^a	0.29 ± 0.03 ^a	0.30 ± 0.06 ^a	0.29 ± 0.03 ^a	0.31 ± 0.07 ^a	0.43 ± 0.45 ^a	0.20 ± 0.04 ^a	0.20 ± 0.04 ^a	0.13 ± 0.04 ^b	0.13 ± 0.04 ^b	(**)	(*)	(*)	
Cenizas	2.27 ± 0.07 ^{ab}	2.30 ± 0.08 ^a	2.29 ± 0.05 ^a	2.30 ± 0.08 ^a	2.29 ± 0.05 ^a	2.27 ± 0.07 ^{ab}	2.12 ± 0.14 ^b	2.16 ± 0.14 ^{ab}	2.16 ± 0.14 ^{ab}	2.14 ± 0.17 ^{ab}	2.14 ± 0.17 ^{ab}	(**)	(ns)	(ns)	
MELN ¹	1.23 ± 0.73	1.62 ± 0.79	1.45 ± 0.72	1.62 ± 0.79	1.45 ± 0.72	1.23 ± 0.73	1.59 ± 0.72	1.25 ± 0.53	1.25 ± 0.53	1.89 ± 0.72	1.89 ± 0.72	(ns)	(ns)	(ns)	
DG															
Humedad	69.07 ± 0.94 ^a	69.61 ± 2.13 ^a	67.37 ± 2.64 ^{ab}	69.61 ± 2.13 ^a	67.37 ± 2.64 ^{ab}	69.07 ± 0.94 ^a	62.89 ± 1.51 ^c	68.41 ± 3.35 ^a	68.41 ± 3.35 ^a	65.30 ± 1.05 ^{bc}	65.30 ± 1.05 ^{bc}	(***)	(**)	(*)	
Proteína	20.37 ± 0.31 ^a	20.11 ± 1.53 ^a	20.84 ± 1.84 ^a	20.11 ± 1.53 ^a	20.84 ± 1.84 ^a	20.37 ± 0.31 ^a	17.05 ± 1.13 ^b	17.24 ± 1.41 ^b	17.24 ± 1.41 ^b	17.87 ± 1.26 ^b	17.87 ± 1.26 ^b	(***)	(ns)	(ns)	
Lípidos	2.88 ± 0.98 ^{ab}	2.39 ± 1.07 ^a	4.60 ± 1.89 ^b	2.39 ± 1.07 ^a	4.60 ± 1.89 ^b	2.88 ± 0.98 ^{ab}	12.30 ± 0.66 ^c	8.17 ± 3.46 ^c	8.17 ± 3.46 ^c	10.60 ± 1.77 ^c	10.60 ± 1.77 ^c	(***)	(*)	(ns)	
Cenizas	2.17 ± 0.09	2.27 ± 0.24	2.10 ± 0.53	2.27 ± 0.24	2.10 ± 0.53	2.17 ± 0.09	1.98 ± 0.46	1.93 ± 0.20	1.93 ± 0.20	2.59 ± 0.80	2.59 ± 0.80	(ns)	(ns)	(ns)	
MELN ¹	5.50 ± 0.82	5.63 ± 0.93	5.08 ± 1.28	5.63 ± 0.93	5.08 ± 1.28	5.50 ± 0.82	5.77 ± 2.71	4.25 ± 1.13	4.25 ± 1.13	3.64 ± 1.37	3.64 ± 1.37	(ns)	(ns)	(ns)	

¹M.E.L.N. = Material extraíble libre de nitrógeno.

Valores en la misma fila con diferentes superíndices presentan diferencias significativas. ANOVA: 1: Efecto de la grasa; 2: Efecto del glutamato; 1*2: Interacción grasa*glutamato; ns = no significativo (P>0,05); (*)P<0,05; (**)P<0,01; (***)P<0,001

4. Discusión

El principal avance de este trabajo ha sido la elaboración de dietas formuladas que han sido aceptadas por *O. vulgaris* y cuya composición nutricional ha podido ser modificada. La variación de un único nutriente en la composición de la dieta permite atribuir los resultados obtenidos a la modificación nutricional, y en el caso concreto de este estudio al contenido en lípidos o al grado de suplementación en glutamato.

4.1. Sobre la aceptabilidad de las dietas formuladas

En la Fig. 1A se comparan las TAR obtenidas al suministrar las dietas del presente estudio con otras dietas naturales o formuladas en ejemplares subadultos de *O. vulgaris*. Los resultados de aceptabilidad en el presente estudio han sido más pobres (1,8-2,7 %P/día) que los obtenidos con dietas naturales a base de crustáceos (5,9-7,0 %P/día; Aguado Giménez y García García, 2002; García García y Cerezo Valverde, 2006) o calamar (4,6-5,8 %P/día; Quintana et al., 2008; Domingues et al., 2009a), aunque se asemejan a las obtenidas con pescado (2,3-2,6 %P/día; Aguado Giménez y García García, 2002; García García y Aguado Giménez, 2002) o con otras dietas formuladas que emplean alginato como aglomerante (3,1 %P/día; Cerezo Valverde et al., 2008). Según otros trabajos el empleo de gelatina como aglomerante presenta una mejor aceptabilidad en *O. maya* (Rosas et al., 2008) y *O. vulgaris* (Quintana et al., 2008), registrándose TAR similares respecto de dietas naturales a base de crustáceos o calamar, respectivamente. No obstante, las TAR obtenidas en el trabajo de Quintana et al. (2008) podrían estar sobreestimadas por no tener en cuenta las tasas de lixiviación del pienso. Igualmente, estos autores emplearon ejemplares más pequeños (468-506 g) que los del presente estudio (700-889 g), por lo que también cabría esperar mayores TAR. Cerezo Valverde et al. (2008) también emplearon gelatinas en la preparación de dietas para *O. vulgaris*, obteniendo igualmente elevadas tasas de lixiviación, aunque en este caso asociadas con bajas tasas de ingesta y crecimiento. Estos resultados sugieren que la forma de elaboración de las dietas también podría ser un factor a tener en cuenta en su aceptabilidad. Mientras que Rosas et al. (2008) y Quintana et al. (2008) aglomeraron pastas de calamar o cangrejo con gelatina en frío, Cerezo Valverde et al. (2008) aplicaron calor a la mezcla con el objetivo de mejorar su textura. Domingues et al. (2009b) sin embargo no observaron diferencias en *Sepia officinalis* al comparar las TAR de dietas naturales tratadas con calor, desecadas o hervidas, con la misma dieta congelada, aunque los pobres resultados de crecimiento obtenidos con las primeras evidenciaron una pérdida de calidad nutricional. Por lo tanto, los trabajos comentados coinciden en que las dietas elaboradas con gelatinas presentan una buena aceptabilidad en el pulpo, aunque por contra presentan cierto grado de disgregación en el agua. El empleo de alginatos proporcionaría texturas más estables, sin embargo su aceptabilidad y digestibilidad podrían verse comprometidas (Rosas et al., 2008).

En referencia a las modificaciones nutricionales empleadas, un contenido lipídico en la dieta del 8-9 % se relacionó con menores tasas de ingesta (1,86-2,01 %P/día) respecto de una dieta con un porcentaje inferior al 1 % (2,48-2,64 %P/día; Fig. 1A). Igualmente, tal y como se muestra en la Fig. 2, las dietas naturales preferidas por *O. vulgaris* han sido aquellas de bajo contenido lipídico, incluyendo cangrejos, calamares o merluza (< 1,3 % de lípidos; García García y Cerezo Valverde, 2006; Domingues et al., 2009a). García García y Aguado Giménez (2002) obtuvieron peores TAR suministrando peces de mayor contenido lipídico como la boga (5,9 %) o la sardina (19,6 %). Igualmente, Domingues et al. (2008) observaron bajas TAR en *S. officinalis* alimentadas con sardina

(41 % de lípidos en peso seco). La presencia de heces aceitosas y flotantes al suministrar dietas ricas en grasa (O'Dor et al., 1984; García García y Aguado Giménez, 2002) y la peor asimilación y digestibilidad de éstas (Petza et al., 2006; Mazón et al., 2007) apuntarían a la mayor idoneidad de dietas pobres en grasa.

La adición de glutamato no estimuló la ingesta en ninguno de los ensayos realizados (Tabla 4 y Fig. 1A). No obstante, este mismo aminoácido ha actuado de atrayente en esta especie, estimulando la frecuencia de ventilación y la locomoción hacia esta sustancia disuelta (Chase y Wells, 1986). Es importante por lo tanto diferenciar entre aquellas sustancias que favorecen la captura del pienso y las que favorecen su ingestión (Lee et al., 1991). Tampoco Domingues et al. (2005) observaron diferencias en las TAR de *S. officinalis* alimentadas con dietas formuladas con distintos grados de suplementación en lisina.

4.2 Sobre el crecimiento con dietas formuladas y su aprovechamiento nutritivo

Los mejores resultados de crecimiento y aprovechamiento de la dieta se obtuvieron con el mayor grado de suplementación en glutamato en ambos ensayos (Figs. 1B y 1C), con incrementos de peso que al menos duplicaron al resto de grupos experimentales y una correlación positiva entre los índices calculados y el grado de suplementación (Tabla 5). Estos resultados sugieren la utilización de la forma suplementada de este aminoácido y refuerzan la idea de que de los requerimientos de proteína y aminoácidos deberían jugar un papel prioritario en la formulación de dietas para cefalópodos. Estos animales son exclusivamente carnívoros, constituyendo los aminoácidos su principal fuente de energía (O'Dor et al., 1984; Lee, 1994). Presentan un elevado contenido en proteína en su composición corporal, entre el 70 y 90 % de su peso seco (Lee, 1994; García García y Cerezo Valverde, 2006), destacando como aminoácidos esenciales predominantes la arginina, lisina y leucina, y entre los no esenciales el aspartato y el glutamato (Villanueva et al. 2004; Rosa et al., 2004). Este último destaca por ser el aminoácido más abundante en los tejidos de los cefalópodos y en las dietas naturales que usualmente consumen (Zdzislaw et al., 1994; Cerezo Valverde et al., 2009). El glutamato presenta además un sistema enzimático específico para su oxidación, tanto en *O. vulgaris* como en otros cefalópodos (Rocca y Ghiretti, 1958; Storey et al., 1978; Hoeger et al., 1987). La utilización con fines energéticos de este aminoácido permitiría un ahorro de otros incluidos en la dieta, explicando así el mejor rendimiento de la dieta suplementada. Igualmente estos resultados sugieren que podría no haberse alcanzado el grado óptimo de suplementación de glutamato en el presente estudio. Domingues et al. (2005) también obtuvieron los mejores resultados con la dieta que presentó el mayor grado de suplementación en lisina (0,67 %), alcanzando TEC del 0,48 %P/día en *S. officinalis*. En otros trabajos la adición de proteínas hidrolizadas en *Octopus maya* (Aguila et al., 2007) o aminoácidos en forma cristalina en *S. officinalis* (Castro y Lee, 1994) resultó en crecimientos negativos o bajos, en gran parte atribuible a la baja aceptabilidad de las dietas. También se han observado niveles altos de aminoácidos libres en el tejido nervioso de los cefalópodos, sugiriendo su participación en funciones importantes distintas de las estructurales (D'Aniello et al., 1995).

En todo caso, con ninguna de las dietas formuladas hasta ahora se han alcanzado las elevadas TEC que se obtienen al suministrar crustáceos en *O. vulgaris* (1,6-2,4 %P/día según Aguado Giménez y García García (2002) y Cerezo Valverde et al. (2008); Fig. 1B). Los mejores resultados con dietas formuladas han sido presentados por Quintana et al. (2008), con TEC del 1,4 %P/día para ejemplares de 650 g a 19,9 °C. No obstante, para estas mismas condiciones

experimentales las TEC estimadas suministrando crustáceos según Aguado Giménez y García García (2002) serían del 2,4 %P/día. En el caso de juveniles de *O. maya* (0,5 g de peso) sí se han obtenido TEC similares al comparar una dieta natural, a base de cangrejo, y otra de pasta de cangrejo con gelatina al 2 %, sugiriendo un buen balance nutricional y digestibilidad de este aglomerante (Rosas et al., 2008). En este último trabajo, la adición de alginato de sodio en la dieta provocó crecimientos negativos y una disminución en su digestibilidad, sugiriendo que el aglomerante empleado y su contenido en la dieta, así como la especie considerada y su estado de desarrollo deben tenerse en cuenta en la formulación de estas dietas.

Tabla 8. Valores observados y estimados de tasa de crecimiento absoluta (TCA y TCAEst, respectivamente) en función de la tasa de alimentación de proteína (TAAP) y de lípidos (TAAL) en otros trabajos, a partir de la ecuación obtenida en el presente estudio ($TCA = -5,647 + 2,256*TAAP + 2,715*TAAL$).

Dieta	TAAP g/día	TAAL g/día	TCA g/día	TCAEst g/día	Referencia
Alginato+Boga	3.06	2.56	6.26	8.21	Cerezo Valverde et al., 2008
Gelatina+Boga	2.41	0.73	1.87	1.77	Cerezo Valverde et al., 2008
Boga	3.79	1.15	7.69	6.03	García García y Cerezo Valverde, 2006
Boga+Cangrejo	9.18	1.26	18.47	18.49	García García y Cerezo Valverde, 2006

El referencia al contenido lipídico de la dieta, varios resultados del presente estudio sugieren un papel importante de éstos en la nutrición de *O. vulgaris*. Tal y como se muestra en la Tabla 4 y Fig. 1C, existió un mejor aprovechamiento de la dieta rica en grasa, de forma similar a lo observado cuando se suministran dietas naturales, hasta cierto contenido lipídico. En la Fig. 1C se muestran datos del IEA que superan el 40 % cuando se suministra boga (5,9 % de lípidos; García García y Aguado Giménez, 2002), merluza o calamar (1,3 % de lípidos; Domingues et al., 2009a), y entre el 25 y 35 % para los crustáceos (<1 % de lípidos). Igualmente, García García y Cerezo Valverde (2006) observaron un peor aprovechamiento de la dieta cuando ésta estaba compuesta exclusivamente por crustáceos (31,3 para IEA y 27,9 % para PPV), estableciendo un nivel de lípidos adecuado entre el 2 y 3 % al suministrar una dieta mixta de cangrejo y boga (39,3 y 33,1 % para IEA y PPV, respectivamente).

Para ayudar a esclarecer el papel de los lípidos en el presente trabajo, se han representado las TCA en función de la TAAP (Fig. 3A) y la TAAL (Fig. 3B) en todos los ejemplares. Cuando ambos factores se consideran independientemente, se observa una relación significativa entre la TCA y la TAAP, sin que la TAAL tenga un efecto evidente. Sin embargo, la inclusión conjunta de ambos factores en la ecuación para estimar la TCA provocaría un aumento importante de la variabilidad explicada (Fig. 3C). En este sentido, una ingesta elevada de proteína con bajos niveles de grasa (<1 %) provocaría buen crecimiento, sin embargo, el rendimiento ofrecido en términos de aprovechamiento nutritivo sería bajo. Una dieta con menor contenido proteico provocaría crecimientos similares en caso de incluir un porcentaje apropiado de lípidos, cuyos valores óptimos y tipos de lípidos en dietas formuladas deberían ser establecidos en futuras investigaciones. Igualmente, la estimación de las TCA en otros trabajos a partir de los valores de TAAP y TAAL en el rango estudiado revela valores similares (Tabla 8), sugiriendo la importancia de avanzar en los factores que afectan a la aceptabilidad de dieta.

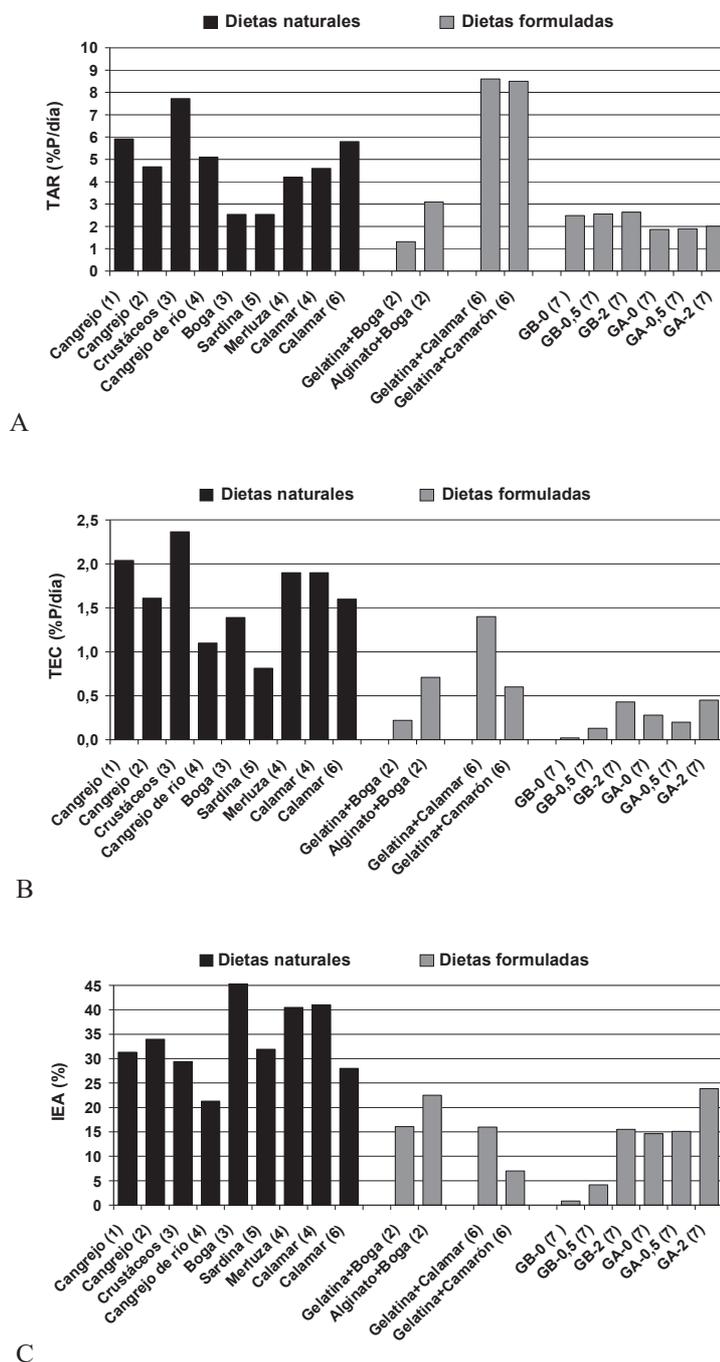


Figura 1(A-C). Comparación de las tasas de alimentación relativa (TAR), tasas específicas de crecimiento (TEC) e índices de eficacia alimentaria (IEA) del presente estudio con los obtenidos y estimados en otros trabajos en *O. vulgaris* (677-1038 g; 16,5-21°C): (1) García García y Cerezo Valverde, 2006; (2) Cerezo Valverde et al., 2008; (3) Aguado Giménez y García García, 2002; (4) Domingues et al., 2009; (5) García García y Aguado Giménez, 2002; (6) Quintana et al., 2008; (7) Presente estudio.

Seguramente los lípidos jueguen un papel minoritario pero esencial. Los cefalópodos muestran altos niveles de fosfolípidos, colesterol y ácidos grasos poliinsaturados, especialmente de la serie n-3, (Sinanoglou y Miniadis-Meimaroglou, 1998; Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Koueta et al., 2002; Almansa et al., 2006), por lo que se ha sugerido un predominio del papel estructural sobre el energético (Hochachka et al., 1975; O'Dor et al., 1984; Moltschaniwskyj y Johnston, 2006). Estos últimos autores observaron como ejemplares de *Eupryma tasmanica* que crecieron más presentaban menores niveles de esteroides en la GD sugiriendo que podrían estar siendo liberados para el crecimiento. Igualmente, García et al. (2009) describieron una disminución en los niveles de esteroides y triglicéridos en la GD de *O. vulgaris* después de tres días de ayuno. La carencia de algunas de estas clases lipídicas podría representar un factor limitante para un desarrollo apropiado o una menor eficiencia energética de la dieta.

4.3 Sobre el estado nutricional de los animales alimentados con dietas formuladas

Los cambios más relevantes se dieron a nivel de la glándula digestiva. Existió una importante acumulación de grasa en este órgano (8,1-12,3 %) como consecuencia de una mayor ingesta lipídica (Fig. 4). Numerosos trabajos coinciden en que la glándula digestiva es el órgano con mayor contenido lipídico en los cefalópodos (Rosa et al., 2005), con valores del 5-15 % de su peso húmedo en *O. vulgaris* (Sieiro et al., 2006; Cerezo Valverde et al., 2008) o del 3-13 % en *S. officinalis* (Blanchier y Boucaud-Camou, 1982; Fluckiger et al., 2008). Estos lípidos pueden ser movilizados en situaciones de ayuno (O'Dor et al., 1984; O'Dor y Wells, 1987; Castro et al., 1992), no obstante, los resultados obtenidos y discutidos en la sección 4.2 sugieren que podrían jugar también un papel clave durante el periodo postprandial y de crecimiento. Tanto el contenido en lípidos de la GD como su distribución en las diferentes clases varían con la especie y suelen ser un reflejo de su estrategia alimentaria (Rosa et al., 2005). Así, en el calamar *Eupryma tasmanica* la mayoría de los lípidos presentes en la GD eran componentes estructurales de las membranas (lípidos polares) o productos derivados de la digestión, como esteroides o ácidos grasos libres (Moltschaniwskyj y Johnston, 2006). Por el contrario, los triglicéridos se han descrito como la clase predominante en la GD de *O. vulgaris*, conservándose este patrón en las distintas estaciones del año (Sieiro et al., 2006; García et al., 2009). La distribución de las clases lipídicas es más uniforme en el manto, con claro predominio de los lípidos polares (Almansa et al., 2006; Sieiro et al., 2006). El empleo de dietas formuladas y suplementadas con distintas clases de lípidos podría ser una herramienta eficaz para aclarar su papel, todavía incierto, en la nutrición de los cefalópodos.

El porcentaje de proteína también mostró modificaciones a nivel de la glándula digestiva. Los menores valores observados en el ensayo GA podrían ser fruto de la excesiva acumulación de grasa provocando la disminución porcentual de la proteína, pero también por las menores tasas de ingesta proteica de los animales en este ensayo (Fig. 5). De hecho, situaciones de ayuno o ingestas insuficientes de proteína o desbalanceadas de aminoácidos pueden provocar la movilización de aminoácidos de la GD y del manto (O'Dor et al., 1984; O'Dor y Wells, 1987; Castro et al., 1992; Domingues et al., 2005).

A nivel de la carcasa, las diferencias más evidentes se produjeron en el contenido de minerales entre los dos ensayos GB (2,27-2,30 %) y GA (2,12-2,16 %). Tal y como se muestra en la Fig. 7, el menor contenido de minerales podría deberse a una menor ingesta, más que a una diferencia en el contenido lipídico de la dieta. No obstante, el menor porcentaje de minerales en el ensayo GA no se asoció con un peor crecimiento o aprovechamiento de la dieta, sugiriendo que, a diferencia de lo

ocurrido con los lípidos o las proteínas, podría ser un factor menos limitante en el diseño de dietas formuladas. De hecho, los valores de minerales registrados coincidieron con los descritos en trabajos previos que emplearon tanto dietas naturales (2,2-2,4 % según García García y Cerezo Valverde et al., 2006) como formuladas (2,0-2,4 % según Cerezo Valverde et al., 2008). En todo caso, los requerimientos de minerales en cefalópodos son mal conocidos y, al igual que lo sucedido con otros nutrientes, la mayoría de los datos provienen de los análisis bioquímicos de los propios cefalópodos y de sus presas (Villanueva y Bustamante, 2006). Igualmente, la elaboración de dietas formuladas podría ser una metodología apropiada para su estudio.

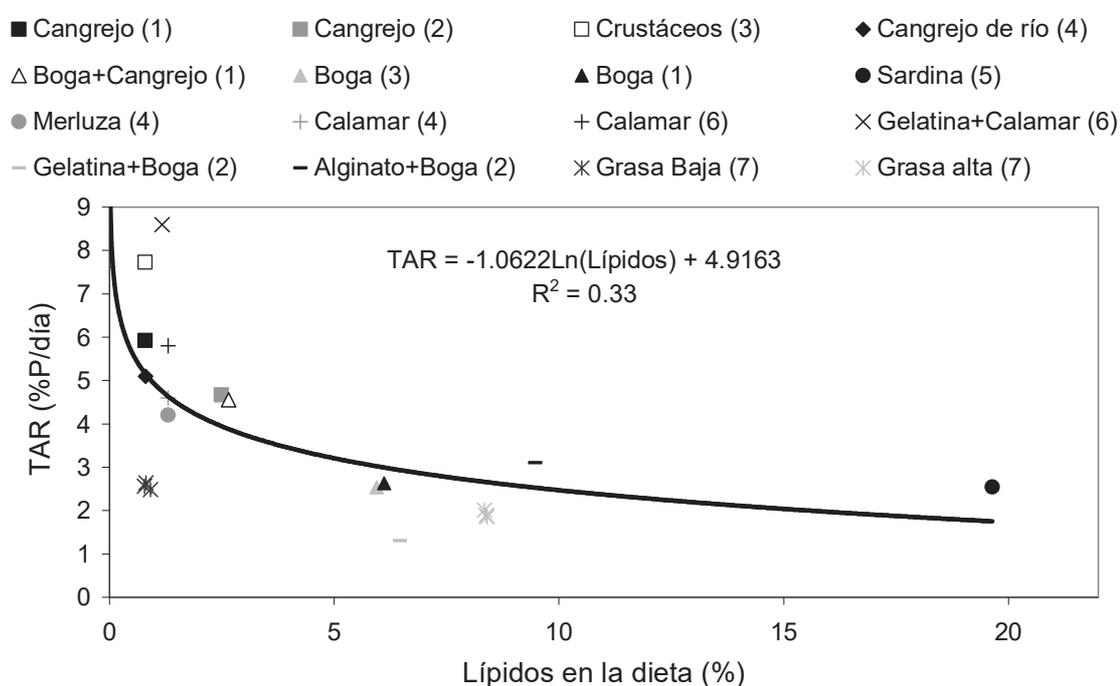


Figura 2. Tasa de alimentación relativa (TAR) obtenida o estimada en función del contenido lipídico de dietas naturales o formuladas procedentes de distintos trabajos en *O. vulgaris*. (677-1038 g; 16,5-21°C): (1) García García y Cerezo Valverde, 2006; (2) Cerezo Valverde et al., 2008; (3) Aguado Giménez y García García, 2002; (4) Domingues et al., 2009; (5) García García y Aguado Giménez, 2002; (6) Quintana et al., 2008; (7) Presente estudio.

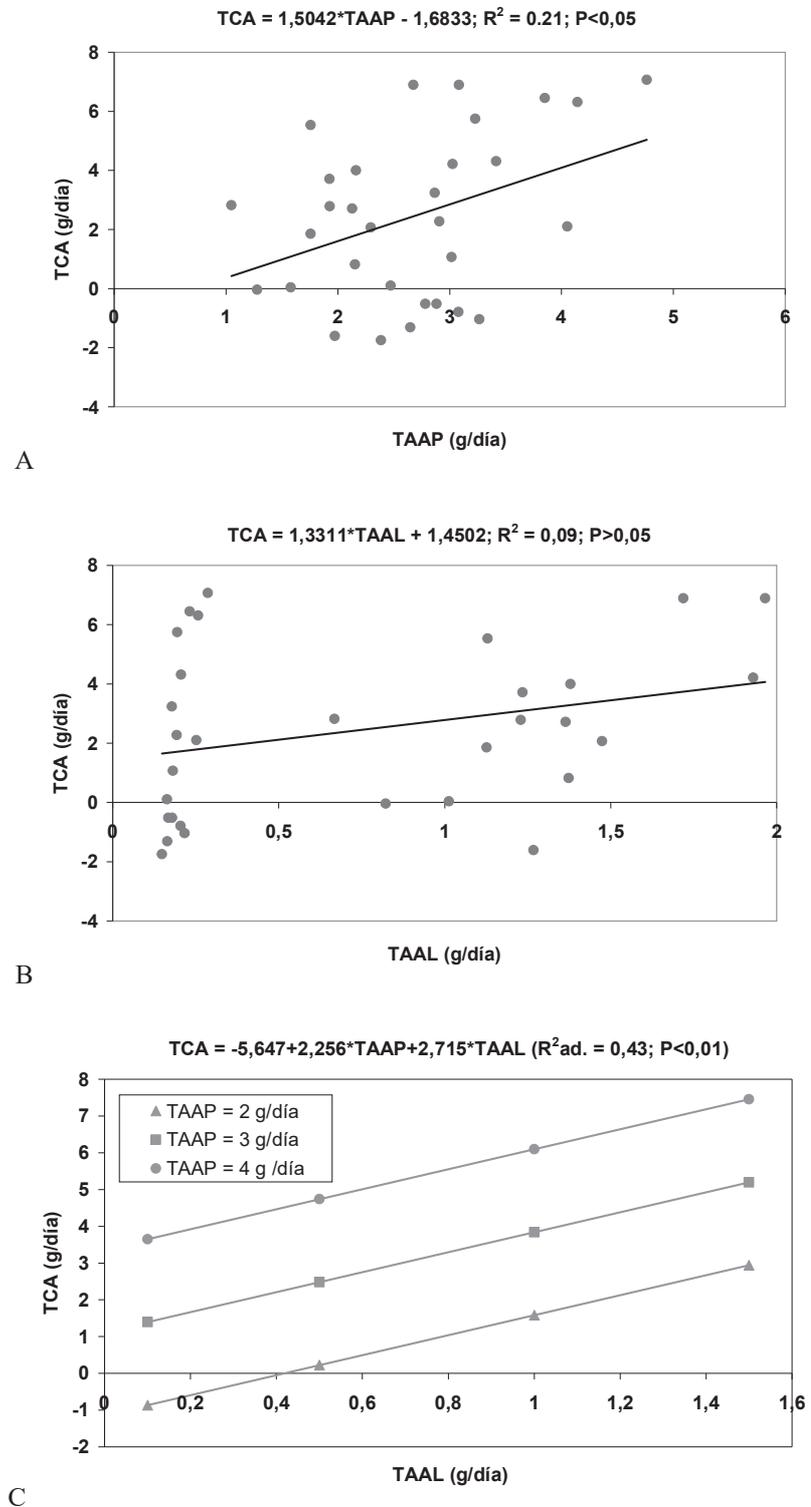


Figura 3(A-C). Relación entre la tasa de crecimiento absoluta (TCA) y la tasa absoluta de alimentación de proteína (TAAP), la tasa absoluta de alimentación de lípidos (TAAL) y el efecto combinado de ambas.

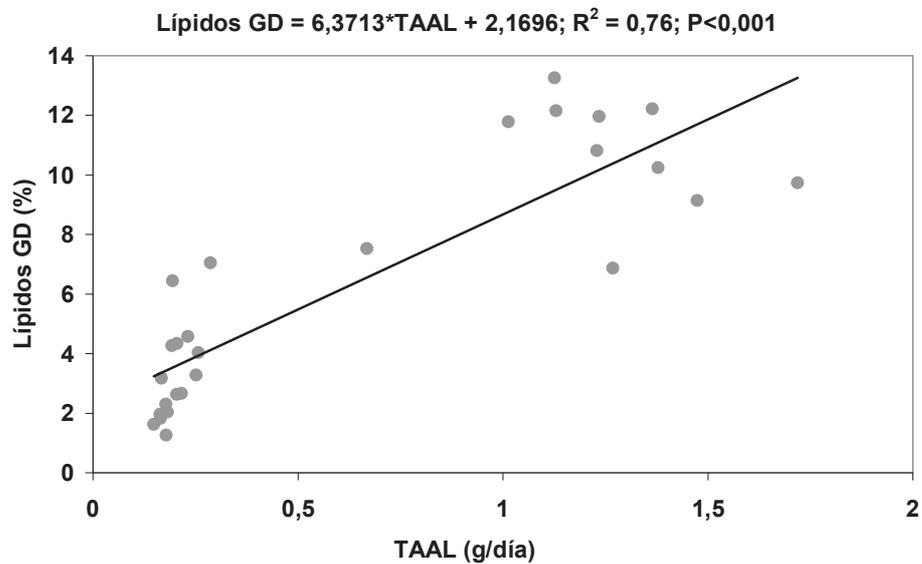


Figura 4. Relación entre el porcentaje de lípidos en la glándula digestiva (Grasa GD) y la tasa absoluta de alimentación de lípidos (TAAL) en *O. vulgaris*.

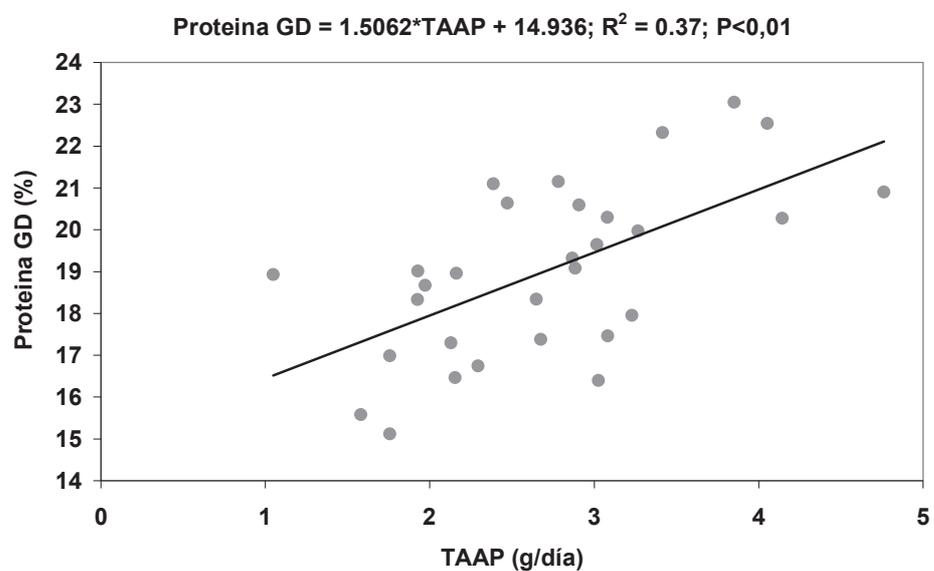


Figura 5. Relación entre el porcentaje de proteína en la glándula digestiva (Proteína GD) y la tasa absoluta de alimentación de proteína (TAAP) en *O. vulgaris*.

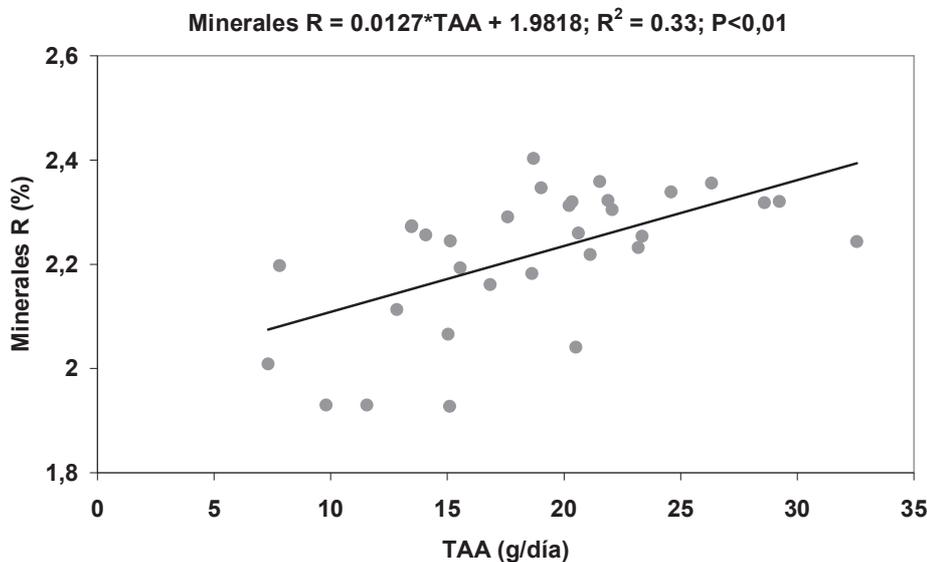


Figura 6. Relación entre el porcentaje de minerales totales en la carcasa (Minerales R) y la tasa de alimentación absoluta (TAA) en *O. vulgaris*

References

- Aguila, J., Cuzon, G., Pascual, C., Domínguez, P. M., Gaxiola, G., Sánchez, A., Maldonado, T., Rosas, C., 2007. The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: Digestive enzyme, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture*, 273, 641-655.
- Aguado Giménez, F., García García, B., 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquacult. Int.* 10, 361-377.
- Almansa, E., Domínguez, P.M., Sykes, A., Tejera, N., Lorenzo, A., Andrade, J.P. 2006. The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture* 256, 403-413.
- AOAC, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington.
- Blanchier, B., Boucaud-Camou, E., 1984. Lipids in the digestive gland and the gonad of immature and mature *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda). *Mar Biol.* 80, 39-43.
- Castro, B.G., Dimarco, F.P., DeRusha, R. H., Lee, P.G., 1993. The effects of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth, and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 170, 241-252.
- Castro, B.G., Garrido, J.L., Sotelo, C.G., 1992. Changes in composition of digestive gland and mantle muscle of the cuttlefish *Sepia officinalis* during starvation. *Mar. Biol.* 114, 11-20.
- Castro, B.G., Lee, P.G., 1994. The effect of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 109A, 1007-1016.

- Cerezo Valverde, J., García García, B., 2005. Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) at different weights and temperatures: analysis of respiratory behaviour. *Aquaculture* 244, 303-314.
- Cerezo Valverde, J., Hernández, M.D., Aguado-Giménez, F., García García, B., 2008. Growth, feed efficiency, and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275, 266-273.
- Cerezo Valverde, J., Tomás, A., Martínez-Llorens, S., Jover, M., García, S., Rodríguez, C., Gairín, I., Estefanell, J., Pascual, C., García García, B., 2009. Composición en aminoácidos e índices de calidad proteica de dietas naturales e ingredientes alternativos para el desarrollo de piensos en el pulpo común (*Octopus vulgaris*). In: Beaz, D., Villarroya, M., Cárdenas, S. (Eds.). Libro de Resúmenes del XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid, Spain, 24-26 Nov. 2009. pp. 40-41.
- Chapela, A., González, A.F., Dawe, E.G., Rocha, F., Guerra, A., 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Sci. Mar.* 70, 121-129.
- Chase, R., Wells, M. J., 1986. Chemotactic behaviour in *Octopus*. *J. Comp. Physiol. A* 158, 375-381.
- Cho, C.Y., Bureau, D.P., 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. *Aquac. Res.* 32, 349-360.
- D'Aniello, A., Nardi, G., De Santis, A., Vetere, A., di Cosmo, A., Marchelli, R., Dossena, A., Fisherl, G., 1995. Free L-amino acids and D-aspartate content in the nervous system of Cephalopoda. A comparative study. *Comp. Biochem. Physiol.* 112B, 661-666.
- Davies, S.J., Gouveia, A., Laporte, J., Woodgate, S.L., Nates, S., 2009. Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). *Aquac. Res.* 40, 1759-1769.
- Domingues, P.M., Dimarco, F.P., Andrade, J.P., Lee, P.G., 2005. Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. *Aquacult. Int.* 13, 423-440.
- Domingues, P.M., López, N., Muñoz, J.A., Maldonado, T., Gaxiola, G., Rosas, C., 2007. Effects of a dry pelleted diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. *Aquacult. Nutr.* 13, 273-280.
- Domingues, P.M., Ferreira, A., Marquez, L., Andrade, J.P., López, N., Rosas, C., 2008. Growth, absorption and assimilation efficiency by mature cuttlefish (*Sepia officinalis*) fed with alternative and artificial diets. *Aquacult. Int.* 3, 215-229.
- Domingues P.M., Garcia S., Hachero-Cruzado I., Lopez N., Rosas C., 2009a. The use of alternative prey (crayfish, *Procambarus clarki*, and hake, *Merluccius gayi*) to culture *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797). *Aquacult. Int.* Published on line: 21 April 2009. DOI 10.1007/s10499-009-9259-1.
- Domingues, P.M., Marquez, L., López, N., Rosas, C., 2009b. Effects of food thermal treatment on growth, absorption, and assimilation efficiency of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquacult. Int.* 17, 283-299.

- Fluckiger, M., Jackson, G.D., Nichols, P., Virtue, P., Daw, A., Wothersponn, S., 2008. An experimental study of the effect of diet on the fatty acid profiles of the European Cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Mar. Biol.* 154, 363-372.
- García García, B., Aguado Giménez, F., 2002. Influence of diet on on-growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 211, 171-182.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. *Aquaculture* 253, 502-511.
- García García, J., Rodríguez González, L.M., García García, B., 2004. Cost analysis of octopus on-growing installation in Galicia. *Span. J. Agric. Res.* 2, 531-537.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., Aguado-Giménez, F., García García, J. 2009. Growth and mortality of common octopus *Octopus vulgaris* reared at different stocking densities in Mediterranean offshore cages. *Aquacult. Res.* 40, 1202-1212.
- García, S., Hachero-Cruzado, I., Garrido, D., Rosas, C., Domingues, P. M. Efecto del ayuno sobre el contenido en lípidos totales, clases lipídicas y ácidos grasos del manto y glándula digestiva de *Octopus vulgaris*. In: Beaz, D., Villarroel, M., Cárdenas, S. (Eds.). Libro de Resúmenes del XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid, Spain, 24-26 Nov. 2009. pp. 132-133.
- Hochachka, P.W., Moon, T.W., Mustafa, T., Storey, K.B., 1975. Metabolic sources of power for mantle muscle of a fast swimming squid. *Comp. Biochem. Physiol.* 52B, 151-158.
- Hoeger, U., Mommsen, T.P., O'Dor, R.K., Webber, M., 1987. Oxygen uptake and nitrogen excretion in two cephalopods, octopus and squid. *Comp. Biochem. Physiol.* 87A, 63-67.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquacult. Int.* 12, 481-487.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Muñoz, J.L., Okumura, S., Roo, F.J., van der Meeren, T., Vidal, E.A.G., Villanueva, R., 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266, 1-15.
- Koueta, N., Boucaud-Camou, E., Noel, B., 2002. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture* 203, 293-310.
- Lee, P.G., Forsythe, J.W., Dimarco, F.P., DeRusha, R.H., Hanlon, R.T., 1991. Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bull. Mar. Sci.* 49, 362-372.
- Lee, P.G., 1994. Metabolic substrates in cephalopods. In: Pörtner, H.O., O'Dor, R.K., MacMillan, D.L. (Eds.), *Physiology of Cephalopod Mollusc. Lifestyle and Performance Adaptations*. Gordon and Breach Publishers, Basel, Switzerland, pp. 35-51.
- Mangold, K.M., 1983. *Octopus vulgaris*. In: Boyle, P.R. (Ed.), *Cephalopod Life Cycles*, vol.1. Academic Press, London, pp. 335-364.
- Mangold, K.M., von Boletzky, S.V., 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.* 19, 7-12.

- Mazón, M.J., Piedecausa, M.A., Hernández, M.D., García García, B., 2007. Evaluation of environmental nitrogen and phosphorus contributions as a result of intensive ongrowing of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 266, 226-235.
- Miglavs, I., Jobling, M., 1989. The effects of feeding regime on proximate body composition and patterns of energy deposition in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *J. Fish Biol.* 35, 1-11.
- Moltschaniwskyj, N. A., Johnston, D., 2006. Evidence that lipid can be digested by the dumpling squid *Euprymna tasmanica*, but is not stored in the digestive gland. *Mar. Biol.* 149, 565-572.
- Navarro, J.C., Villanueva, R., 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183, 161-177.
- Navarro, J.C., Villanueva, R., 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219, 613-631.
- O'Dor, R.K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M.J., Wells, J., 1984. Nutrient Absorption, Storage and Remobilization in *Octopus vulgaris*. *Mar. Behav. Physiol.* 11, 239-258.
- O'Dor, R.K., Wells, M.J., 1987. Energy and nutrient flow. In: Boyle, P.R. (Ed.). *Comparative Reviews, Cephalopod Life Cycles*, Vol II. Academic Press, London, pp. 109-134.
- Petza, D., Katsanevakis, S., Verriopoulos, G., 2006. Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed ad libitum on a high-lipid diet. *Mar. Biol.* 148, 827-832.
- Quintana, D., Domínguez, P.M., García, S., 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280, 161-164.
- Rocca, E., Ghiretti, F., 1958. Purification and properties of D-Glutamic Acid Oxidase from *Octopus vulgaris* Lam. *Arch. Biochem. Biophys.* 77, 336-349.
- Rosa, R., Costa, P.R., Nunes, M.L., 2004. Effect of sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca: Cephalopoda). *Mar. Biol.* 145, 563-574.
- Rosa, R., Pereira, J., Nunes, M. L., 2005. Biochemical composition of cephalopods with different life strategies, with special reference to a giant squid, *Architeuthis* sp. *Mar. Biol.* 146, 739-751.
- Rosas, C., Cuzon, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Chay, D., López, N., Maldonado, T., Domínguez, P. M., 2007. Energy balance of *Octopus maya* fed crab or an artificial diet. *Mar. Biol.* 152, 371-381.
- Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sánchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domínguez, P. M., Cuzon, G., 2008. Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*. *Aquaculture* 275, 291-297.
- Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C., Rodríguez, M., 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile ongrowing in floating cages. *Aquaculture* 254, 293-300.
- Sieiro, M.P., Aubourg, S.P., Rocha, F., 2006. Seasonal study of the lipid composition in different tissues of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108, 479-487.
- Sinanoglou, V.J., Miniadis-Meimaroglou, S., 1998. Fatty acid of neutral and polar lipids of (edible) Mediterranean cephalopods. *Food Res. Int.* 31, 467-473.

- Storey, K.B., Fields, J.H.A., Hochachka, P.W., 1978. Purification and properties glutamate dehydrogenase from the mantle muscle of the squid, *Loligo pealii*. Role of the enzyme in energy production from amino acids. J. exp. Zool. 205, 111-118.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A., 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. Aquaculture 238, 221-238.
- Villanueva, R., Riba, J., Ruíz-Capillas, C., González, A.V., Baeta, M., 2004. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Ocotpus vulgaris* paralarvae. Aquaculture 242, 455-478.
- Villanueva, R., Bustamante, P., 2006. Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. Aquaculture 261, 225-240.
- Zdzislaw, E., Kolakowska, A., Sun Pan, B., 1994. Composición nutritiva de los principales grupos de organismos alimenticios marinos. In: Zdzislaw, E. (Ed.). Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación. Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp. 41-72.

2.3.3.4. Influencia de una dieta artificial suplementada con arginina sobre el crecimiento, la eficacia alimentaria y la composición corporal en el pulpo común (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797).

IMIDA, C.A. de Murcia

Resumen

En el presente estudio han sido comparados el crecimiento, la eficacia alimentaria y la composición corporal del pulpo común *Octopus vulgaris* alimentado durante 45 días con una dieta húmeda artificial de composición conocida a base de pasta de boga y langostino, aglomerada con alginato, y con tres grados diferentes de suplementación en arginina: sin suplementación (ARG-0%), suplementada con 1% de arginina (ARG-1%) y suplementada con 3% de arginina (ARG-3%). Los animales aceptaron los distintos piensos, con tasas de ingesta similares a las observadas en otros trabajos con dietas húmedas, crecieron y produjeron heces, registrándose un 100% de supervivencia en todos los grupos experimentales. Las tasas de alimentación relativa (TAR) fueron: $2,07 \pm 0,32$, $2,11 \pm 0,42$ y $2,55 \pm 0,43$ % de su peso al día para ARG-0%, ARG-1% y ARG-3%, respectivamente, no existiendo diferencias significativas ($p > 0,05$). Los mejores crecimientos se registraron en los animales alimentados con las dietas suplementadas en arginina con una tasa de crecimiento específica (TEC) de $0,31 \pm 0,17$, $0,37 \pm 0,15$ y $0,39 \pm 0,18$ % de su peso al día, y unos índices de eficacia alimentaria (IEA) de $14,37 \pm 7,05$, $17,23 \pm 3,55$ y $14,89 \pm 6,44$ % para ARG-0%, ARG-1% y ARG-3%, respectivamente, aunque no existieron diferencias significativas. En cuanto al aprovechamiento de la dieta, el valor productivo de la proteína (PPV) fue significativamente superior ($p < 0,05$) con ARG-0% ($32,84 \pm 10,30$ %) y ARG-1% ($30,85 \pm 0,53$ %) que comparados con ARG-3% ($15,95 \pm 8,51$ %), probablemente debido a que la mayor ingesta de proteína observada en este último era empleada con función energética más que estructural. Además, la suplementación con arginina no provocó cambios significativos en la humedad o contenido en proteína, pero se relacionó con cambios en el nivel de lípidos en la glándula digestiva (GD), así como en el material extraíble libre de nitrógeno (MELN) en la carcasa, siendo en ambos casos significativamente mayor en ARG-1%, y sugiriendo una influencia sobre el metabolismo lipídico o hidrocarbonado de los animales. Por lo tanto, el formato de pienso propuesto puede ser apropiado para avanzar en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de cefalópodos.

1. Introducción

El pulpo común (*Octopus vulgaris*) es una especie potencial para la diversificación de los productos de la acuicultura marina. Es una especie con un ciclo de vida corto (12-18 meses), presenta un crecimiento muy elevado, superior al 5% de su peso corporal al día (Iglesias *et al.*, 1997; Aguado Giménez y García García, 2002), tiene una elevada fecundidad, poniendo hasta 500 mil huevos por hembra (Iglesias *et al.*, 1997), una elevada tasa de conversión (Mangold y Boletzky, 1973; Mangold, 1983; Navarro y Villanueva, 2003; Aguado Giménez y García García, 2002), un alto contenido proteico en su composición corporal, correspondiente al 70-90% de su peso seco (Lee, 1994), y una rápida adaptación a la vida en cautividad y a las condiciones de cultivo, tanto en jaulas flotantes como en tanques, así como una gran resistencia a su transporte y manipulación. Si se le

suma el elevado precio que puede alcanzar en el mercado, todo hace del pulpo común un candidato excelente para su cultivo a escala industrial.

Desde mediados de los años 90 existen en las rías gallegas (NO de España) diversas empresas dedicadas al engorde comercial, alcanzando las 12,66 toneladas en 2004 (JACUMAR, 2005), si bien son pequeñas cooperativas y asociaciones de pescadores. También desde la creación del Plan Nacional para el cultivo del pulpo en 2001, subvencionado por la Secretaría General Pesca del MAPA, se han desarrollado varios subproyectos de colaboración entre las empresas y diversos grupos investigadores, enfocados al cultivo larvario y al engorde. En Galicia han sido pioneras las experiencias de engorde en jaulas flotantes (Rama-Villar *et al.*, 1997; Luaces-Canosa y Rey-Méndez, 1999; Tuñón *et al.*, 2001, 2002; Chapela *et al.*, 2006). Desde entonces se intenta trasladar esta actividad a otras zonas del norte español, como en Asturias (Carrasco y Rodríguez, 2005), y al Mediterráneo, en Baleares, Valencia y Murcia, así como en el archipiélago canario, tanto en tanques como en jaulas. En los últimos años se han realizado ensayos de engorde en jaulas flotantes en zonas protegidas (Oltra *et al.*, 2005; Delgado *et al.*, 2007), así como en mar abierto (San Pedro del Pinatar, Murcia) (García García *et al.*, 2009), con el objeto de conocer el rendimiento de esta especie en aguas del Mediterráneo. En Canarias también se han realizado estudios de engorde en zonas protegidas (Socorro *et al.*, 2005).

Actualmente, el principal cuello de botella del cultivo integral del pulpo de roca reside en la fase de cultivo de paralarva, ya que es donde se registran las mayores mortalidades (Navarro y Villanueva, 2003), y que en definitiva, determinan el desarrollo industrial de todo el proceso. De hecho, este problema hace que la producción industrial dependa de las capturas de juveniles del medio natural (de 500 a 800g), viéndose limitado dicho desarrollo por la imposibilidad de obtener un volumen a escala comercial de juveniles en cautividad (Iglesias *et al.*, 2007).

Por otro lado, para el engorde y mantenimiento de los pulpos, juveniles y adultos, se usan presas naturales de bajo valor comercial, tanto vivas como congeladas (peces, crustáceos y otros moluscos). Actualmente la rentabilidad en términos económicos de estas explotaciones es baja (García García *et al.*, 2004), y un cultivo industrial de pulpo común, rentable y sostenible a largo plazo, depende del desarrollo de una dieta artificial satisfactoria (Vaz-Pires *et al.*, 2004).

De forma general, los resultados obtenidos con dietas formuladas desarrolladas para el pulpo por diversos grupos de investigación han sido más pobres que los obtenidos con dietas naturales, consiguiéndose crecimientos negativos o nulos en la mayoría de los casos. La causa puede residir en la baja palatabilidad de dichas dietas y/o a una composición nutricional deficitaria de algún componente esencial. En este sentido, los niveles de cobre (Castro *et al.*, 1993; Villanueva y Bustamante, 2006), cantidad y tipo de lípidos (Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Koueta *et al.*, 2002; García García y Aguado Giménez, 2002; Petza *et al.*, 2006; Moltschaniwskyj y Johnston, 2006), así como un balance apropiado de aminoácidos (Lee, 1994; García García y Cerezo Valverde, 2006; Villanueva *et al.*, 2004; Domínguez *et al.*, 2005) deberían tenerse en cuenta a la hora de diseñar un pienso para cefalópodos. La inclusión de sustancias atrayentes en la formulación del pienso, así como la presencia de sustancias no deseadas, se ha visto que también influyen poderosamente en la aceptación y la ingesta de la dieta (Lee *et al.*, 1991). No obstante, recientemente algunos investigadores han obtenido algunos formatos de pienso que sí son aceptados con resultados de crecimiento prometedores para el futuro (Cerezo Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008; Rosas *et al.*, 2008).

Inicialmente, las dietas artificiales deben tener propiedades organolépticas y texturas apropiadas para que se mantengan aglutinadas hasta su ingestión, permitiendo la manipulación por el pulpo y resistiendo al lavado o disgregación producido por el contacto con el agua de mar. Hasta la fecha, los piensos existentes para peces, y los procesos que se emplean para su elaboración (granulación, extrusión) no son los más adecuados para cefalópodos, debido a que cuando son manipulados se disgregan con facilidad (Domingues *et al.*, 2007). Las últimas experiencias con cefalópodos, como la sepia (*Sepia officinalis*) (Domingues *et al.*, 2008), el pulpo rojo (*Octopus maya*) (Rosas *et al.*, 2008), y el pulpo común (*Octopus vulgaris*) (Cerezo Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008), se centran en la elaboración de piensos húmedos a base de una pasta de pescado o crustáceos mezclada con algún aglomerante (gelatina o alginato). Se ha comprobado que el tipo de aglomerante empleado es importante a la hora de la aceptación y la ingesta, así como en su digestibilidad (Rosas *et al.*, 2008).

A partir de este punto, el desarrollo de una dieta artificial de composición nutricional conocida que ingieran los pulpos permitiría determinar los requerimientos nutricionales en cada caso, ya que gracias al propio formato del pienso sería posible realizar cambios en su composición.

Debido al metabolismo preferentemente proteico de los cefalópodos (Lee, 1994), un punto de partida interesante sería, por lo tanto, la incorporación de algunos aminoácidos esenciales puros a dichos piensos húmedos. Un estudio detallado de la composición bioquímica de los tejidos del pulpo, así como de las dietas naturales que mejores resultados ofrecen está siendo abordado actualmente por el Plan Nacional "Optimización del engorde de pulpo" de JACUMAR (2007-2009), y gracias al cual se están generando hipótesis interesantes. Al igual que los resultados de Villanueva *et al.* (2004) y Rosa *et al.* (2004) se ha puesto en evidencia la importancia de aminoácidos esenciales como la arginina, leucina y lisina. No obstante, cuando se toma como referencia la composición de aminoácidos en la proteína del pulpo, los análisis en crustáceos y peces revelan un valor patrón (mgAA por g de proteína en alimento/ mgAA por g de proteína en pulpo) mínimo para la arginina (53 y 40 %, respectivamente), y además en el caso de los crustáceos también es deficiente para la leucina (92 %) e isoleucina (96 %). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la suplementación con aminoácidos esenciales sería un buen punto de partida. No obstante, la aportación de aminoácidos no esenciales también podría tener un efecto positivo evitando el uso de aminoácidos esenciales con fines energéticos.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es determinar la influencia de los piensos húmedos suplementados con arginina sobre el aprovechamiento nutritivo, crecimiento y composición corporal del pulpo de roca (*Octopus vulgaris*).

2. Material y métodos

2-1 Animales de experimentación y mantenimiento.

Los pulpos (*Octopus vulgaris*) se capturaron del medio natural, en las costas del Mediterráneo (Murcia, España), y fueron transportados a bordo de embarcaciones pesqueras a las instalaciones experimentales del IMIDA, ubicadas en el puerto de San Pedro del Pinatar (Murcia). Se estabularon en tanques circulares de 2000 litros de capacidad y mantenidos en un sistema de recirculación de agua de mar. La temperatura se mantuvo siempre entre 16-20 °C y los niveles de oxígeno nunca fueron inferiores al 80% de saturación (Cerezo Valverde y García García, 2005). Al cabo de 2 semanas aclimatándose y tras comprobar que comían adecuadamente la dieta natural

suministrada a base de cangrejo (*Carcinus mediterraneus*) y boga (*Boops boops*) (Aguado Giménez y García García, 2002; García García y Cerezo Valverde, 2006), se realizó un muestreo (23-Febrero-2009) para seleccionar los ejemplares objeto de estudio; se emplearon 16 pulpos macho de pesos comprendidos entre los 500 y 800 gramos. Para la determinación del sexo, se observó el tercer brazo de la derecha (brazo hectocótilo), donde los machos muestran una diferente morfología en la porción distal. La extracción de los ejemplares de los tanques colectivos se realizó con salabres, evitando en todo momento posibles lesiones o estresar a los animales, desechando los pulpos pequeños (por debajo de los 500 g), las hembras, y también aquellos con daños aparentes (heridas, falta de algún brazo, etc.).

2-2 Elaboración y estabilidad de los piensos

La dieta se basa en la descrita por Cerezo Valverde *et al.* (2008) utilizando como aglomerante el alginato. Se elaboraron 3 piensos artificiales con diferentes grados de suplementación en arginina (entre el 0% y 3%): ARG-0%, ARG-1% y ARG-3% (tabla 1). Con dicha suplementación, y en base al contenido en este aminoácido en las especies usadas para su dieta y según los resultados obtenidos en el Plan Nacional “Optimización del engorde de pulpo” (2007-2009) de JACUMAR, se estiman unas concentraciones finales de 579, 1579 y 3579 mg de Arg por cada 100 g de pienso respectivamente. Estas concentraciones cubrirían el rango observado en los tejidos del pulpo (de 3000 a 3500 mg de Arg por cada 100 g de peso húmedo).

Se preparó una papilla de alginato (65 g de Pokel Merl por cada litro de agua destilada), la cual se mezcló con la boga (*Boops boops*) y el langostino (*Hymenopanaeus muelleri*) triturados y totalmente limpios de escamas, espinas y caparazones; además se añadió colesterol (95% de pureza y estabilizado con alfa-tocoferol, de la casa ACROS) y la correspondiente cantidad de L-arginina pura (Scharlab, S.L.), todo ello mezclado adecuadamente con la ayuda de una mezcladora semiindustrial. A este preparado se le añadió en última instancia una disolución de calcio (100 g de Pokel Cals por cada litro de agua destilada) que actúa de endurecedor de la mezcla, también ayudados de la mezcladora semiindustrial hasta conseguir una textura y aspecto homogéneos. El pienso se distribuyó en bandejas de plástico y se mantuvo en frío a 4°C durante al menos 24 horas para su gelificación y compactación. Posteriormente se cortaron trozos rectangulares, que se guardaron en bolsas y se congelaron para, en su momento, cortar las raciones exactas para cada ejemplar.

Para estimar la estabilidad de los 3 piensos en el agua de mar, se realizó una prueba que consistió en introducir una porción similar a la suministrada a los pulpos (trozo de aprox. 3x3 cm) en un recipiente con agua de mar; se midió el peso inicial introducido y el peso pasadas 4 horas y 24 horas. De esta manera se pudo determinar qué pienso ganaba peso gracias al agua y el que se disgregaba y perdía peso. Las medidas se llevaron a cabo por triplicado. Con estos datos se calcularon los siguientes índices:

- VP (%) = $(P_f - P_i) / P_i * 100$, que indica la variación media del peso del pienso en porcentaje después de sumergirlo en el agua.

- F = P_i / P_f , que representa un factor de corrección;

donde, P_i = peso inicial antes de sumergirlo; P_f = peso después de sumergirlo. El peso del alimento sobrante de cada día se multiplicó por este factor de corrección para el cálculo de la ingesta diaria.

Tabla 1. Composición porcentual de los ingredientes empleados en la formulación de los piensos experimentales.

Pienso	Papilla Alg.*	Disol. Ca+2 **	Boga	Langostino	Arginina añadida	Colesterol añadido	Total (g)
ARG-0 %	34.00	10.00	45.00	10.00	0.00	1.00	100.00
ARG-1 %	33.00	10.00	45.00	10.00	1.00	1.00	100.00
ARG-3 %	31.00	10.00	45.00	10.00	3.00	1.00	100.00

*Papilla de Alginato. Contiene 65 g de POKEL MERL en 1 litro de agua destilada (2,1, 2,0 y 1,9% de POKEL MERL por cada 100g en los piensos ARG-0, ARG-1 y ARG-3, respectivamente).

**Disolución de Calcio. Contiene 100 g de POKEL CALS en 1 litro de agua destilada para los piensos ARG-0 y ARG-1, y 200 g por litro para el pienso ARG-3 (0,9, 0,9 y 1,7% de POKEL CALS por cada 100g en los piensos ARG-0, ARG-1 y ARG-3, respectivamente).

Tanto el POKEL MERL como el POKEL CALS fueron proporcionados por Productos Sur, S.A. (Pol. Ind. Oeste, San Ginés, Murcia).

2-3 Diseño experimental

Los 16 ejemplares seleccionados se alojaron individualmente en 16 tanques circulares de 220 litros donde se realizó la experiencia de engorde, y mantenidos en un sistema de recirculación de agua de mar en circuito cerrado, con filtración mecánica, biológica y ultravioleta, un tanque de percolación y una bomba de calor para el control de temperatura. Inicialmente los ejemplares se aclimataron durante las 2 primeras semanas a las condiciones experimentales alimentándose a base cangrejo y boga descongelada, suministrada en días alternos. Dichos tanques estaban provistos de una malla "antifuga", un reborde de estropajo con el mismo fin, y un tubo de PVC que usaban de guarida. Diariamente se realizó un registro de la temperatura y del oxígeno disuelto, y semanalmente del pH y de los productos nitrogenados. El fotoperiodo fue 12L/12D (37° 50'N, 0° 46'W), la temperatura del agua se mantuvo entre 16,3-19,1 °C (18,25 ± 0,57 °C), la salinidad constante a 37 ‰, pH entre 7 y 8, la saturación de oxígeno disuelto en torno al 95-100% (98,11 ± 1,35 %) de forma que no resultara limitante (Cerezo Valverde y García García, 2005), concentración amoniacal y nitritos por debajo de 0,2 mg/l y nitratos por debajo de 50 mg/l.

Se establecieron 3 grupos experimentales: un grupo control ARG-0 del tanque 1 al 4 (N=4), un grupo ARG-1 del 5 al 10 (N=6) y un grupo ARG-3 del 11 al 16 (N=6). El primer día del experimento (10-Marzo-2009) se muestrearon todos los ejemplares; el peso medio para los grupos ARG-0, ARG-1 y ARG-3 fue de 756 ± 163 g, 755 ± 88 g y 739 ± 120 g, respectivamente. El experimento de engorde con los piensos artificiales duró 45 días.

Los ejemplares se alimentaron 6 días a la semana a saciedad, ayunando los sábados, hecho que resulta beneficioso desde el punto de vista económico y desde la eficiencia en el engorde (García García y Cerezo Valverde, 2004, 2006). La comida fue suministrada a mano a las 09:00 horas de cada día, y el sobrante se retiró también a diario transcurridas al menos 4 horas (13:00-13:30), salvo el domingo, que se retiró al día siguiente. El alimento sobrante de cada día se secó con papel absorbente, se pesó, y se multiplicó por el factor de corrección correspondiente indicado en la tabla 2 para el cálculo de la ingesta real.

Tabla 2. Resultados de la prueba de estabilidad en agua de mar de los piensos experimentales.

Pienso	4 horas en agua		24 horas en agua	
	VP (%)*	F**	VP (%)*	F**
ARG-0 (N=3)	-0,37	1,00	-3,28	1,03
ARG-1 (N=3)	4,97	0,95	4,18	0,96
ARG-3 (N=3)	3,50	0,97	-1,95	1,02

* Variación media del peso del pienso en porcentaje después de sumergirlo en agua.

** Factor de corrección para el cálculo de la ingesta real.

2-4 Análisis bioquímico

Al final del experimento se realizó un análisis bioquímico de composición corporal de los 16 ejemplares, así como de los piensos suministrados, incluyendo humedad, proteína, grasa, cenizas y material extraíble libre de nitrógeno obtenido por diferencia. Dicho análisis también se realizó a 3 ejemplares al comienzo del experimento (control inicial). Para esto, se separó la glándula digestiva y se trituró, así como el resto del cuerpo sin la glándula digestiva, hasta homogeneizarlos, analizando por separado los animales excluyendo la glándula digestiva (EGD) y por otro, la glándula digestiva (GD), calculando la composición corporal total (TCB), de acuerdo a la ecuación: $TCB (\%) = EDGW*(EDG/100) + DGW*(GD/100) / (BW)*100$, donde BW es el peso del animal completo, EDGW el peso del animal sin la glándula digestiva, y DGW es el peso de la glándula digestiva. Para los análisis se tomaron 2 gramos de muestra para los lípidos, y 1 gramo para la humedad, proteína y minerales. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

La proteína bruta se determinó por el método de Kjeldahl, usando un factor de conversión de 6,25 para la transformación de nitrógeno en proteína. El contenido en lípidos se determinó mediante extracción con éter etílico en un extractor SOXTEC AVANTI 2058. La humedad fue obtenida por desecación ($105 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 h) hasta peso constante en una estufa KOWEL, D2 NOVA. Las cenizas se obtuvieron por incineración en un horno MUFLA (HOBERSAL, HD-230) a $450 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta peso constante. La energía bruta y la relación proteína / energía (P/E en g/MJ) se estimó usando los coeficientes de Miglavs y Joblinn (1989): proteína 23,6 kJ/g, lípidos 38,9 kJ/g y carbohidratos 16,7 kJ/g.

2-5 Parámetros y análisis de los datos

Con todos los datos obtenidos se calcularon los siguientes índices: Pi = peso medio inicial; Pf = peso medio final; IP = incremento de peso; TAA = Tasa de Alimentación Absoluta (IT/t); TAR = Tasa de Alimentación Relativa ($IT / ((Pi+Pf) / 2)*100$); TAAP = Tasa Absoluta de Alimentación de Proteína (PI/t); TAAL = Tasa Absoluta de Alimentación de Lípidos (LI/t); TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto (IP/t); TEC = Tasa Específica de Crecimiento ($(Ln(Pf) - Ln(Pi))*100 / t$); IEA = Índice de Eficacia Alimentaria ($IP*100 / IT$); IC = Índice de Conversión ($IT*100 / IP$); PPV = Valor Productivo de la Proteína (proteína retenida*100 / (TAAP*t)); LPV = Valor Productivo de la Grasa (grasa retenida*100 / (TAAL*t)); P/E = relación energía/proteína en g/MJ; DGI = Índice de la glándula digestiva ($(DGW / Pf)*100$); donde Pf = Peso final en gramos; Pi = Peso inicial en gramos; t = tiempo en días; IT = alimento total ingerido en gramos (alimento suministrado – alimento sobrante*F), siendo F = factor de corrección para cada pienso; PI = Proteína Ingerida (TAAP*t); LI = Lípidos ingeridos (TAAL*t); DGW = Peso de la glándula digestiva en gramos.

El efecto de las distintas dietas sobre los índices calculados se analizó con el ANOVA de un factor (cantidad de arginina) y la significación de las diferencias de los valores medios entre grupos experimentales con el test de Tukey para números desiguales de muestras. Todos los índices y porcentajes calculados se transformaron en logaritmos neperianos antes de realizar el ANOVA. Se estableció un nivel de significación $p < 0,05$.

3 Resultados

Las tres dietas formuladas mostraron una textura firme antes de ser introducidas en el agua de mar. Se realizó una prueba de estabilidad, que evidenció una ligera pérdida de peso por disgregación en el pienso ARG-0 a las 4 horas tras su inmersión en agua de mar (-0,37 % de su peso inicial) y una ganancia por hidratación tanto del ARG-1 como del ARG-3, con unos valores del 4,97 y 3,50 % respectivamente. Después de 24 h, los valores fueron diferentes, produciéndose una pérdida de peso en el ARG-0 y el ARG-3 (-3,28 y -1,95 % respectivamente), y un incremento en el peso en el ARG-1 del 4,18 % de su peso inicial (tabla 2).

En cuanto a la composición nutricional, las tres dietas mostraron unos valores de humedad muy similares, entre el 73 y 75 % de su peso, por lo que se pueden considerar piensos “húmedos”. Los porcentajes de grasa y cenizas también fueron similares, sin embargo, el porcentaje de proteína aumentó y el del MELN disminuyó conforme aumentaba el grado de suplementación en arginina. La relación proteína / energía (P/E) también fue mayor a medida que aumentaba el aporte de arginina (20,65, 23,22 y 27,83 g/MJ, para ARG-0, ARG-1 y ARG-3 respectivamente) (tabla 3).

Al comienzo del experimento no existieron diferencias significativas entre los pesos medios iniciales (Pi) de los distintos grupos experimentales, así como tampoco entre los pesos finales (Pf) (tabla 4). No obstante se observó un mayor IP en aquellos grupos alimentados con los piensos suplementados (ARG-1 y ARG-3, 136 ± 47 y 138 ± 61 g, respectivamente) frente al grupo ARG-0 (118 ± 85 g), aunque esta diferencia no fue significativa ($p > 0,05$) observándose una supervivencia del 100% en todos los grupos experimentales. Este hecho también se reflejó en la tasa específica de crecimiento (TEC), con un valor máximo en el grupo ARG-3 ($0,39 \pm 0,18$ % P/día). No se observaron diferencias para la tasa de alimentación absoluta (TAA), aunque sí existieron entre la tasa de alimentación absoluta de proteína (TAAP) y la tasa de alimentación absoluta de lípidos (TAAL) de los distintos grupos. La TAAP fue superior para el grupo ARG-3 y la TAAL en los grupos ARG-1 y ARG-3 respecto del grupo ARG-0. En cuanto a los índices de aprovechamiento de la dieta, no existieron diferencias significativas para el IEA, IC ni para el LPV, sin embargo, el PPV fue significativamente mayor en los grupos ARG-0 y ARG-1 respecto al grupo ARG-3. Los demás índices reflejados en la tabla 4 no mostraron diferencias significativas.

Tabla 3. Resultados del análisis de composición de los piensos experimentales.

Pienso	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	M.E.L.N. ¹ (%)	Energía (kJ/100 g)	P/E ² (g/MJ)
ARG-0	$74,35 \pm 0,33$	$11,65 \pm 0,59$	$4,35 \pm 0,77$	$2,46 \pm 0,11$	7,20	564,26	20,65
ARG-1	$75,17 \pm 0,75$	$14,10 \pm 0,33$	$6,42 \pm 0,12$	$2,85 \pm 0,08$	1,46	606,99	23,22
ARG-3	$73,11 \pm 0,72$	$17,84 \pm 0,49$	$5,26 \pm 0,62$	$2,87 \pm 0,15$	0,92	641,01	27,83

¹M.E.L.N. = Material extraíble libre de nitrógeno.

²P/E = Relación proteína / energía

Tabla 4. Índices calculados en los grupos experimentales.

Pienso		ARG-0	ARG-1	ARG-3	ANOVA
	N	4	6	6	
Pi	g	756 ± 163	755 ± 89	739 ± 121	ns
Pf	g	874 ± 228	892 ± 74	877 ± 113	ns
IP	g	118 ± 85	136 ± 47	138 ± 61	ns
TAA	g/día	16,79 ± 4,51	17,20 ± 2,91	20,30 ± 2,61	ns
TAAP	g/día	1,96 ± 0,52 ^a	2,42 ± 0,41 ^a	3,62 ± 0,47 ^b	(*)
TAAL	g/día	0,73 ± 0,20 ^a	1,10 ± 0,19 ^b	1,07 ± 0,14 ^b	(*)
TAR	%P/día	2,07 ± 0,32	2,11 ± 0,42	2,55 ± 0,43	ns
TCA	g/día	2,62 ± 1,89	3,02 ± 1,04	3,08 ± 1,35	ns
TEC	%P/día	0,31 ± 1,17	0,37 ± 0,15	0,39 ± 0,18	ns
IEA	%	14,37 ± 7,05	17,23 ± 3,55	14,89 ± 6,44	ns
IC		9,26 ± 6,69	5,98 ± 1,05	9,31 ± 7,85	ns
PPV	%	32,84 ± 10,30 ^a	30,85 ± 8,36 ^a	15,95 ± 8,51 ^b	(*)
LPV	%	5,63 ± 6,07	5,43 ± 1,36	3,93 ± 4,45	ns
DGI	%	2,62 ± 0,89	3,30 ± 0,53	3,04 ± 0,55	ns

ns = no existen diferencias significativas ($p > 0,05$)

(*) = nivel de significación ($p < 0,05$). Valores con superíndices distintos indican diferencias significativas entre grupos.

Pi = peso medio inicial; Pf = peso medio final; IP = incremento de peso;

TAA = Tasa de Alimentación Absoluta; TAR = Tasa de Alimentación Relativa;

TAAP = Tasa Absoluta de Alimentación de Proteína; TAAL = Tasa Absoluta de Alimentación de Lípidos;

TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto; TEC = Tasa Específica de Crecimiento; IEA = Índice de Eficacia

Alimentaria;

IC = Índice de Conversión; PPV = Valor Productivo de la Proteína; LPV = Valor Productivo de la Grasa;

DGI = Índice de la glándula digestiva.

Tabla 5. Composición nutricional de los grupos experimentales.

Pienso	CONTROL	ARG-0	ARG-1	ARG-3	ANOVA
N	3	4	6	6	
TBC¹					
Humedad	81,66 ± 2,32	80,80 ± 1,08	80,04 ± 0,83	81,17 ± 0,55	ns
Proteína	14,54 ± 2,27	16,08 ± 0,69	16,19 ± 0,91	15,26 ± 0,66	ns
Lípidos	0,22 ± 0,07	0,41 ± 0,22	0,50 ± 0,10	0,38 ± 0,23	ns
Cenizas	2,45 ± 0,17 ^a	2,25 ± 0,16 ^{ab}	2,05 ± 0,07 ^b	2,29 ± 0,10 ^a	(*)
MELN ²	1,12 ± 0,22	0,47 ± 0,40	1,21 ± 0,14	0,91 ± 0,56	ns
EDG²					
Humedad	81,98 ± 2,37	81,11 ± 0,93	80,51 ± 0,83	81,49 ± 0,60	ns
Proteína	14,43 ± 2,32	16,06 ± 0,70	16,17 ± 0,95	15,18 ± 0,69	ns
Lípidos	0,19 ± 0,07	0,25 ± 0,16	0,17 ± 0,05	0,21 ± 0,21	ns
Cenizas	2,46 ± 0,19 ^a	2,26 ± 0,16 ^{ab}	2,07 ± 0,07 ^b	2,30 ± 0,10 ^a	(*)
MELN ²	0,93 ± 0,24 ^{ab}	0,32 ± 0,38 ^a	1,08 ± 0,15 ^b	0,83 ± 0,51 ^{ab}	(*)
DG³					
Humedad	71,33 ± 1,84	69,67 ± 4,07	66,09 ± 1,52	71,50 ± 4,46	ns
Proteína	17,97 ± 1,34	16,89 ± 1,05	17,07 ± 0,81	17,70 ± 1,01	ns
Lípidos	1,34 ± 0,42 ^a	5,33 ± 3,47 ^{ab}	9,83 ± 2,48 ^b	5,62 ± 3,68 ^{ab}	(*)
Cenizas	2,15 ± 0,15	1,83 ± 0,25	1,70 ± 0,28	1,75 ± 0,36	ns
MELN ²	7,20 ± 0,35	6,28 ± 1,26	5,31 ± 2,01	3,43 ± 0,76	ns

ns = no existen diferencias significativas

(*) = Nivel de significancia (P<0,05)

¹ TBC = composición corporal total

² EDG = composición sin la glándula digestiva

³ DG = composición de la glándula digestiva

En cuanto a la composición nutricional de los ejemplares de *O. vulgaris* de cada grupo experimental (tabla 5), no se encontraron diferencias significativas en los valores de humedad y proteínas entre los grupos en ningún compartimento. Sí se observaron diferencias significativas en la composición lipídica a nivel de la GD, con valores mayores en el grupo ARG-1 respecto del grupo control, no existiendo diferencias en el resto de los grupos. Las cenizas mostraron más variabilidad, observándose diferencias significativas tanto en la fracción EDG como a nivel de la composición corporal total (TBC), con valores significativamente mayores en los grupos control y ARG-3 respecto del grupo ARG-1. Los valores de MELN en el grupo ARG-1, correspondientes a la fracción EDG, fueron significativamente mayores respecto del grupo ARG-0, no observándose diferencias en el resto de los grupos.

4 Discusión

Las dietas experimentales elaboradas fueron aceptadas por todos los ejemplares de *O. vulgaris* objeto de estudio. Dado la firmeza y textura de los piensos suministrados, los pulpos fueron capaces de manipularlos con facilidad y fueron ingeridos sin problema, como ya se había visto en otros trabajos con este tipo de piensos húmedos (Cerezo Valverde *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008; Rosas *et al.*, 2008).

No obstante, tal y como se refleja en la revisión de la tabla 6, las experiencias de engorde de cefalópodos con dietas artificiales han sido variadas, y han producido resultados dispares en cuanto a la aceptación e ingesta de los piensos y el crecimiento obtenido. Desde los años 90 hasta prácticamente la fecha actual, los crecimientos obtenidos han sido nulos, e incluso negativos, en diferentes especies de cefalópodos. Ha sido en los últimos años, con el uso de piensos húmedos, cuando se han producido crecimientos positivos y buenas tasas de alimentación. Los piensos húmedos parecen solucionar el problema de la baja palatabilidad observada con los piensos secos y son mejor aceptados por los animales. Sin embargo, el conocimiento de los requerimientos nutricionales en cefalópodos está aún en una fase inicial, debido al poco tiempo que se llevan estudiando los piensos de composición nutricional conocida.

Es interesante señalar que los resultados que se obtienen con las dietas artificiales no son tan buenos como los producidos por las dietas naturales, incluidos los obtenidos en el presente estudio. Como muestra el gráfico 1, las TAA son mayores con una dieta a base de cangrejo que comparadas con la mayoría de dietas artificiales empleadas, aunque con diferentes piensos artificiales se alcanzan valores parecidos a los conseguidos con pescado. Los resultados obtenidos en la TAA con la dieta ARG-1, en el presente estudio, son similares a los obtenidos en otros ensayos con diversas dietas artificiales. Hay que resaltar que las altas tasas de ingesta registradas con las dietas a base de pasta de calamar o langostino aglomeradas con gelatina, ensayadas por Quintana *et al.*, 2008, no son del todo reales ni comparables, ya que no se tuvo en cuenta a la hora del cálculo los índices de lixiviación de los piensos empleados, sobreestimándose el dato. Igualmente, los crecimientos producidos con una dieta artificial, hoy por hoy, son peores que los obtenidos con las dietas naturales, quizá por la baja ingesta comparada con una dieta a base de crustáceos, por el pobre aprovechamiento de la dieta o por una inapropiada composición nutricional: balance inadecuado de aminoácidos y/o ácidos grasos esenciales (Lee, 1994; García García y Cerezo Valverde, 2006; Villanueva *et al.*, 2004; Domínguez *et al.*, 2005) o déficit en algún otro componente, que sí está presente en las dietas naturales en las cantidades necesarias, como por ejemplo en cobre o el colesterol (Castro *et al.*, 1993; Villanueva y Bustamante, 2006; Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Koueta *et al.*, 2002; García García y Aguado, 2002; Petza *et al.*, 2006; Moltschanivskyj y Johnston, 2006).

Tabla 6. Tasas de alimentación relativas (TAR) y específicas de crecimiento (TEC) obtenidas en ensayos con dietas artificiales en cefalópodos.

Especie	Dieta	Peso (g)	TAR (% P/día)	TEC (% P/día)	Referencia
<i>Octopus bimaculoides</i>	Pellets camarón	125	5.3	-10.5	Lee <i>et al.</i> , 1991
<i>Octopus bimaculoides</i>	Surimi (sabor cangrejo)	125	0.2	-0.5	Lee <i>et al.</i> , 1991
<i>Octopus bimaculoides</i>	Pellets pollo	125	2.7	-6.8	Lee <i>et al.</i> , 1991
<i>Sepia officinalis</i>	Pellets peneidos	420	1-3	0.0-0.6	Lee <i>et al.</i> , 1991
<i>Octopus vulgaris</i>	Pellets peneidos	>250	Palatable	0.0	Lee <i>et al.</i> , 1991
<i>Sepia officinalis</i>	Surimi (base de pescado)	75	3-9	0.54	Castro <i>et al.</i> , 1993
<i>Sepia officinalis</i>	Pellets camarón	75	1.0-3.0	0.33	Castro <i>et al.</i> , 1993
<i>Sepia officinalis</i>	Surimi (dieta semi-pura)	106	2.4-5.3	-0.26-0.33	Castro <i>et al.</i> , 1994
<i>Sepia officinalis</i>	Surimi (suplementada)	322-451	2.6-2.8	-0.02-0.30	Domingues <i>et al.</i> , 2005
<i>Octopus maya</i>	Pienso seco	472	2.8	0.0	Domingues <i>et al.</i> , 2007
<i>Octopus maya</i>	Pellets (base de calamar)	486	Palatable	-0.08	Rosas <i>et al.</i> , 2007
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (alginatos)	810	3.1	0.71	Cerezo Valverde <i>et al.</i> , 2008
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (gelatina)	852	1.3	0.22	Cerezo Valverde <i>et al.</i> , 2008
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (calamar)	506	8.6*	1.4	Quintana <i>et al.</i> , 2008
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (camarón)	468	8.5*	0.6	Quintana <i>et al.</i> , 2008
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (2 % glutamato)	715	2.0	0.45	Cerezo Valverde <i>et al.</i> , 2009
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (4 % mineral mix)	691	0.5	-0.69	Cerezo Valverde <i>et al.</i> , sin publicar
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (1 % colesterol)	675	2.9	0.82	Cerezo Valverde <i>et al.</i> , sin publicar
<i>Octopus vulgaris</i>	Pienso húmedo (3 % arginina)	808	2.55	0.39	Presente estudio

*Sobreestimada por no tener en cuenta la disgregación del pienso.

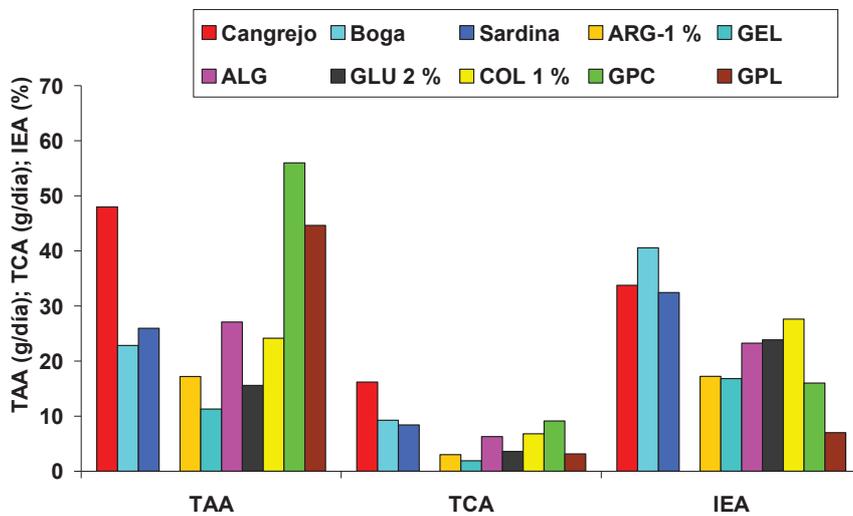


Figura 1. Comparación de la TAA, TCA e IEA obtenidos tanto con dietas naturales como con dietas artificiales.

TAA = Tasa de alimentación absoluta; TCA = Tasa de crecimiento absoluto; IEA = Índice de eficacia alimentaria;

ARG-1 % = Pasta de pescado y langostino con alginato, suplementada con 1% de arginina (Presente estudio).

GEL = Pasta de pescado y langostino con gelatina como aglomerante; ALG = Pasta de pescado y langostino con alginato como aglomerante (Cerezo et al., 2008).

GLU 2% = Pasta de pescado y langostino suplementada con 2 % de glutamato aglomerada con alginato (Cerezo et al., 2009).

COL 1% = Pasta de pescado y langostino suplementada con 1 % de colesterol, 2% de glutamato aglomerada con alginato (Cerezo et al., sin publicar).

GPC = Pasta de calamar aglomerada con gelatina; GPL = Pasta de langostino aglomerada con gelatina (Quintana et al., 2008).

En el presente estudio, la dieta suplementada con arginina produce unos mejores crecimientos que la dieta que no incorpora el aminoácido, aunque las diferencias entre los grupos no son significativas (tabla 4). Las diferencias entre los tres piensos (ARG-0, ARG-1 y ARG-3) residen en el porcentaje de proteína y en el MELN que incorporan cada uno. La proteína va aumentando conforme aumenta el grado de suplementación. También, el porcentaje de MELN varía entre los piensos, siendo mayor cuanto más alginato (hidratos de carbono) presentan (tabla 3). Esto se traduce en unas mayores TAAP en los piensos ARG-1 y ARG-3, aunque no se refleja en un mejor aprovechamiento de la dieta, de hecho, el PPV del grupo ARG-3 es significativamente menor respecto de los otros grupos. Esto puede indicar que la arginina adicionada como aminoácido libre no es realmente aprovechada por los pulpos para crecer, sino que la utilizarían más con fines energéticos, desempeñando un papel ahorrador sobre el resto de proteína ingerida. Esta podría ser la razón de que el crecimiento observado fuera ligeramente superior en ARG-1 y ARG-3, siendo la proteína que es destinada al crecimiento en mayor proporción la de la boga y la del langostino. Como se muestra en el gráfico 2, el PPV muestra un valor óptimo a partir del cual manifiesta una clara tendencia decreciente conforme se incrementa la TAAP, evidenciado el “derroche” de proteína a partir de este punto. Tal y como ocurre en trabajos previos, los valores de PPV en este estudio en los grupos ARG-0 y ARG-1 (30-33 %) no difieren de los valores observados en dietas naturales (valores para crustáceos del 27-49 % y para peces del 36 %, según García García y Cerezo Valverde (2006) y Cerezo Valverde et al. (2008)) ni respecto de otras dietas artificiales (28 % según

Cerezo Valverde et al. (2008) hasta un 45 % según Cerezo Valverde et al. (sin publicar), sugiriendo que las peores tasas de crecimientos observadas podrían deberse más que a un mal aprovechamiento de la proteína a una menor ingesta de alimento o a la falta de algún nutriente específico, como los comentados anteriormente. Por lo tanto, el grado de suplementación que produce un mejor rendimiento sería el correspondiente a la dieta ARG-1, con un IC de 5,98, mejor que el de los otros grupos, y un PPV de 30,85 %, similar con el grupo ARG-0.

Debido a la ausencia de estudios sobre requerimientos de aminoácidos en cefalópodos, la mayoría de la metodología y resultados en acuicultura están referidos a peces y crustáceos. En peces, los requerimientos de aminoácidos esenciales han sido determinados empleando distintas metodologías (Ketola, 1982): a) con dietas sintéticas en las cuales se suministraba una mezcla de aminoácidos puros (Schuhmacher et al., 1997), b) suplementando una fuente proteica incompleta con concentraciones crecientes del aminoácido deficiente o, c) complementando una fuente proteica deficiente añadiendo el aminoácido limitante en forma de otra fuente proteica que lo contenga. Con los dos últimos se han obtenido los mejores resultados de crecimiento y retención de nitrógeno, además de considerarse protocolos más factibles y prácticos. Los peores resultados obtenidos con la suplementación de aminoácidos en forma cristalina en dietas deficientes se han atribuido a las rápidas tasas de absorción de éstos, puesto que una óptima síntesis proteica requiere que todos los aminoácidos estén presentes simultáneamente y en cantidades adecuadas en los tejidos. Un exceso en el suministro sería usado con propósitos energéticos, o metabolizado en forma de grasa o glucógeno. Probablemente en el estudio presente haya ocurrido de forma similar, siendo aquellos aminoácidos suministrados en forma libre los que han presentado una absorción más rápida y empleándose con fines energéticos.

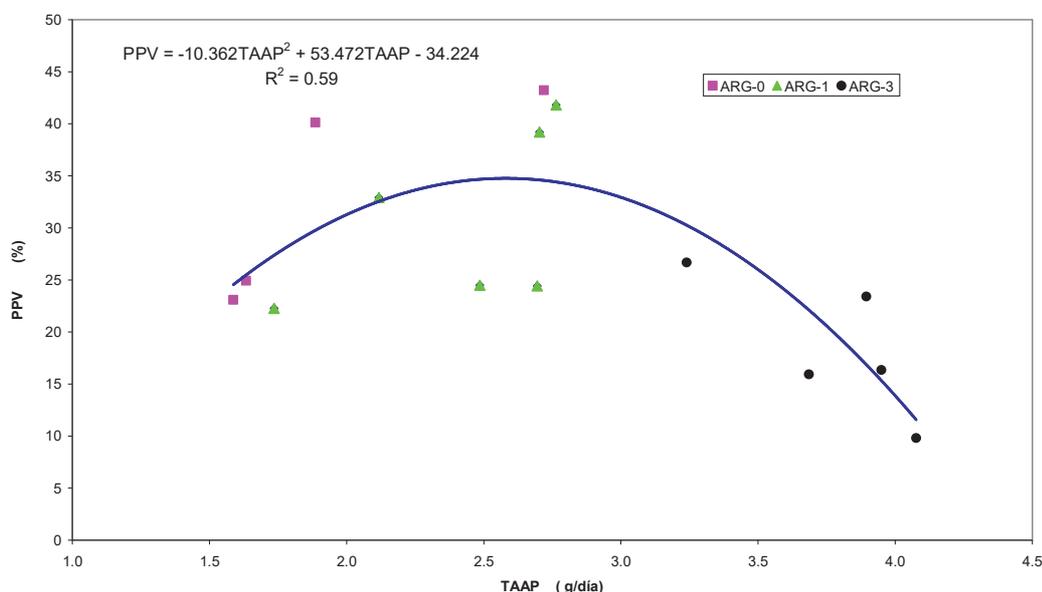


Figura 2. Curva de tendencia del PPV en relación TAAP obtenidos con las dietas experimentales. PPV = Valor productivo de la proteína; TAAP = Tasa absoluta de alimentación de proteína.

Atendiendo a la composición nutricional de los ejemplares de *O. vulgaris* (tabla 5), el hecho más destacable es el diferente contenido lipídico en la GD de los animales del grupo ARG-1 con valores casi del 10%, y la ausencia de diferencias en el resto de fracciones. Igualmente, la dieta suministrada a afectado a la composición nutricional de la GD en trabajos previos (Moltschaniwskyj y Johnston, 2006; Cerezo Valverde et al., 2008). Factores como una mayor TAAL y/o TAAP o una menor utilización lipídica como fuente de energía podrían haber afectado aumentando el contenido lipídico en la GD. Si bien, estudios previos no parecen apoyar esta hipótesis, puesto que los lípidos predominantes en la GD de los cefalópodos suelen ser el colesterol, los lípidos polares (fosfolípidos) y ácidos grasos libres, con bajos niveles de lípidos de reserva (Almansa et al., 2006; Moltschaniwskyj y Johnston, 2006; Sieiro et al, 2006). Además, tampoco existieron diferencias en el contenido lipídico de la GD de los grupos ARG-0 y ARG-3 a pesar de la mayor TAAP de éste último, por lo que parece poco probable una transformación metabólica del aminoácido en grasa. De todos modos, parece evidente que los mejores crecimientos y estado nutricional de los pulpos coinciden con niveles más altos de lípidos en la GD sin existir necesariamente una mayor TAAL (Cerezo Valverde et al., 2008), siendo necesario llevar a cabo en estudios futuros análisis de las distintas clases lipídicas de la GD para comprobar el verdadero efecto de la dieta suministrada.

Existieron diferencias en el porcentaje de cenizas en la fracción EDG y TBC entre el grupo control inicial y el grupo ARG-1, aunque probablemente más que debido al efecto de la dieta, se pueda atribuir a la mayor relación pico del animal / peso total de los ejemplares, tal y como sugieren otros autores (García García y Cerezo Valverde, 2006), y razón por la cual estas diferencias no se detectaron a nivel de la GD.

De modo contrario, el porcentaje en MELN fue superior en el grupo ARG-1. En este sentido el metabolismo de los hidratos de carbono en los cefalópodos está poco estudiado. Su composición es inferior al 1 % (Vlieg, 1984). El glucógeno es el más importante y se almacena en el músculo del manto y no en la glándula digestiva, como ocurre en otros moluscos. También existe glucosa circulante en el plasma y es utilizada como fuente de energía inmediatamente después de las comidas, sin embargo en ayuno, la energía es aportada principalmente por las proteínas. Por otra parte, durante el ejercicio sí se movilizan las reservas de glucógeno para obtener energía (O'Dor et al., 1984). Se requieren estudios previos para comprobar si los mayores niveles de MELN precisamente en estos animales se deben a una mayor acumulación de glucógeno muscular, no obstante, la contribución relativa de este sustrato energético sería mínima.

5 Conclusiones

- Los tres piensos elaborados con distintos grados de suplementación en arginina fueron aceptados por el pulpo generando un crecimiento significativo, no obstante los resultados obtenidos son peores que los descritos con dietas naturales.
- La suplementación con un 1 o 3 % de arginina estimuló ligeramente el crecimiento de los animales pero no mejoró el valor productivo de la proteína, sugiriendo que los beneficios de la suplementación se podrían atribuir al uso de los aminoácidos con fines energéticos y al ahorro de proteína procedente del resto de ingredientes del pienso.
- La suplementación con arginina no provocó cambios significativos en la humedad o contenido en proteína, pero se relacionó con cambios en el nivel de lípidos en la glándula digestiva y el material

extraíble libre de nitrógeno en la carcasa y sugiriendo una influencia sobre los procesos metabólicos de los animales que podrían ser objeto de estudio en futuras investigaciones.

6. Bibliografía

- Aguado Giménez, F., García García, B., 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier /1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquacult. Int.* 10(5), 361-377.
- Almansa, E., Domínguez, P., Sykes, A., Tejera, N., Lorenzo, A., Andrade., J.P., 2006. The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture* 256, 403 – 413.
- Carrasco, J.F., Rodríguez, C., Rodríguez,M., 2005. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier) utilizando como base de la alimentación zoeas vivas de crustáceos. Libro de Actas. IX Congreso Nacional de Acuicultura, Octubre 2005, Sevilla, Spain, pp. 219–222.
- Castro, B.G., DiMarco, F.P., DeRusha, R.H., Lee., P.G., 1993. The effect of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth, and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 170, 241-252.
- Castro, B. G., Lee, P. G. 1994. The effect of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Comp.Biochem.Physiol.* 109A, 1007-1016.
- Cerezo Valverde, J., García García, B., 2005. Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) at different weights and temperatures: analysis of respiratory behaviour. *Aquaculture* 244, 303-314.
- Cerezo Valverde J., Hernández M. D., Aguado-Giménez F. and García García B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273
- Cerezo Valverde J, Aguado Giménez F, Hernández MD and García García, B., 2009. Crecimiento y aprovechamiento de dietas húmedas artificiales con distintos niveles de grasa y suplementación de glutamato en el pulpo de roca (*Octopus vulgaris*). Presentado al “Cephalopod International Advisory Council CIAC’09 Symposium”, Vigo, España, 2009.
- Chapela,A., González,A.F., Dawe,E.G., Rocha,F., Guerra,A., 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Sci. Mar.* 70, 121-129.
- Delgado M, Gairín JI, Carbó R, Aguilera C (2007) Determinación de periodos de engorde de *Octopus vulgaris* en el Delta del Ebro: Rango térmico óptimo. Cerviño A, Guerra A, Pérez C (Eds.). Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura (Tomo I). Vigo, España. CIMA (Centro de Investigaciones Mariñas de Coron), pp 647-650.
- Domínguez, P. M., Dimarco, F. P., Andrade, J. P., Lee, P. G. 2005. Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. *Aquacult. Int.* 13, 423-440.

- Domínguez, P. M., López, N., Muñoz, J. A., Maldonado, T., Gaxiola, G., & Rosas, C. 2007. Effects of a dry pelleted diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. *Aquacult. Nut.* 13, 273-280.
- Domínguez, P. M., Ferreira, A., Márquez, L., Andrade, J. P., López, N., & Rosas, C. 2008. Growth, absorption and assimilation efficiency by mature cuttlefish (*Sepia officinalis*) fed with alternative and artificial diets. *Aquacult. Int.* 3, 215-229.
- García García, B., Aguado Giménez, F., 2002. Influence of diet on on-growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 211, 171-182.
- García García B., Cerezo Valverde J., 2004. Influencia del número de días de ayuno a la semana sobre el crecimiento, el índice de conversión y la supervivencia en el pulpo de roca (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797). *Revista AquaTIC*, nº 21, Julio-Diciembre 2004. [Disponible el 17/12/2004 en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=177>].
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing *Aquaculture* 253, 502–511.
- García García, J., Rodríguez, L.M., García García, B., 2004. Cost analysis of octopus on-growing installation in Galicia. *Span. J. Agric. Res.* 2(4), 531-537.
- García García, B., CerezoValverde, J., Aguado-Giménez, F., García García, J., Hernández, M.D., 2009. Growth and mortality of common octopus *Octopus vulgaris* reared at different stocking densities in Mediterranean offshore cages *Aquacult. Res.* 40, 1202-1212.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris*) en el Instituto Español de Oceanografía. En: Costa, J., Abellán, E., García García, B., Ortega, A., Zamora, S. (Eds.), *Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura*, Cartagena 9–11 de Julio de 1997. MAPA, Madrid, pp. 221–226. 613– 631.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Muñoz, J.L., Okumura, S., Roo, F.J., van der Meeren, T., Vidal, E.A.G., Villanueva, R., 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266, 1–15.
- Ketola, H.G., 1982. Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73, 17-24.
- Koueta, N., Boucaud-Camou, E., Noel, B., 2002. Effects of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture* 203, 293-310.
- Lee, P.G., 1994. Metabolic substrates in cephalopods. In :Pörtner, H.O., O'Dor, R.K., MacMillan, D.L. (Eds.), *Physiology of Cephalopod Mollusc. Lifestyle and Performance Adaptations*. Gordon and Breach Publishers, Switzerland, pp: 35-51.
- Lee, P.G., Forsythe, J.W., DiMarco, F.P., DeRusha, R.H., Hanlon, R.T., 1991. Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bull. Mar. Sci.* 49(1-2), 362-372.
- Luaces-Canosa, M., Rey-Méndez, M., 1999. El engorde industrial de pulpo (*Octopus vulgaris*) en jaulas: análisis de dos años de cultivo en la Ría de Camariñas (Galicia). Libro de resúmenes. VII Congreso Nacional de Acuicultura. Las Palmas de Gran Canaria, Spain, 19–21 May.

- Mangold, K.M., 1983. *Octopus vulgaris*. In: Boyle, P.R. (Ed.), *Cephalopod Life Cycles*, vol. 1. Academic Press, London, pp. 335–364.
- Mangold, K.M., von Boletzky, S.V., 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.* 19, 7 – 12.
- Moltschaniwskyj, N., Johnston, D. 2006. Evidence that lipid can be digested by the dumpling squid *Euprymna tasmanica*, but is not stored in the digestive gland. *Mar. Biol.* 149, 565 – 572.
- Navarro, J. C., and R. Villanueva. 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183:161-177.
- Navarro, J. C., and R. Villanueva. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture* 219:613-631.
- O'Dor, R.K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M.J., Wells, J. 1984. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Mar. Behav. Physiol.* 11, 239 – 258.
- Oltra, R., Alemany, F., Roig, M, Mezquita, F. 2005. Engorde pulpo (*Octopus vulgaris*) en jaulas flotantes en la Comunidad Valenciana. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 408-409.
- Petza, D., Katsanevakis, S., & Verriopoulos, G. 2006. Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed ad libitum on a high-lipid diet. *Mar. Biol.* 148, 827-832.
- Quintana, D., Domínguez, P. M., García, S., 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280, 161-164.
- Rama-Villar, A., Faya-Angueira, V., Moxica, C., Rey-Méndez, M., 1997. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) en batea. In: Costa, J., Abellán, E., García García, B., Ortega, A., And Zamora, S. (Eds.), *Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura*, Cartagena 9-11 de Julio de 1997. MAPA, Madrid, pp. 245-250.
- Rosa, R., Costa, P. R., & Nunes, M. L., 2004. Effect of sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca: Cephalopoda). *Mar. Biol.* 145, 563-574.
- Rosas, C., Cuzon, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Chay, D., López, N., Maldonado, T., & Domínguez, P. M. 2007. Energy balance of *Octopus maya* fed crab or an artificial diet. *Mar. Biol.* 152, 371-381.
- Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sánchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domínguez, P. M., Cuzon, G. 2008. Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*. *Aquaculture* 275, 291-297.
- Schuhmacher, A., Wax, C., Gropp, J.M., 1997. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. *Aquaculture* 151, 15-28.
- Seiro, M. P., Aubourg, S. P., & Rocha, F. 2006. Seasonal study of the lipid composition in different tissues of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108, 479-487.

- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T. e Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. *Actas X Congreso Nacional de Acuicultura*: 428-429, Gandía, España.
- Tuñón, E., Parada, A., Caeiro, C., Rey Méndez, M., 2001. Efecto del tamaño inicial en el engorde industrial del pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) en jaulas suspendidas en bateas. In: Rey-Méndez, M., Fernández Casal, J., Izquierdo Rodríguez, M. (Eds.), III Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove, Spain pp: 181-199.
- Tuñón E., Parada, A., Caeiro, C., Rey-Méndez, M., 2002. Estudio comparativo basado en la dieta diferenciada para el engorde de pulpo *Octopus vulgaris*, Cuvier 1797; en una explotación industrial. In: Rey-Méndez, M., Fernández Casal, J., Izquierdo Rodríguez, M. (Eds.), IV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. O Grove, Spain pp: 255-269.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A. 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238, 221 – 238.
- Villanueva, R., J. Riba, C. Ruíz-Capillas, A. V. Gonzalez, and M. Baeta. 2004. Aminoacid composition of early stages of cephalopods and effect of aminoacid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*, 455–478.
- Villanueva, R. y Bustamante, P., 2006. Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture* 261, 225–240.
- Vlieg, 1984. Proximate composition of New Zealand squid species. *N.Z.J.Sci.* 27, 45-150.

2.4. Desarrollo de pienso semihúmedo a partir de ensilado y pasta de pescado.

2.4.1. Ensilado y pasta de pescado: Introducción.

ETPP-USC, CIMA, C.A. de Galicia.

En la actualidad, la generación de residuos orgánicos por parte de las industrias pesqueras o transformadoras de la pesca puede suponerles cierta carga económica no deseada, así como problemas medioambientales por vertidos, el almacenamiento o tratamiento de los mismos (Guerrero *et al.*, 2006), lo cual estimula a la búsqueda de coproductos a partir de estos mal llamados residuos, cuando en realidad serían subproductos de la Industria. A lo sumo, estas empresas regalan estos residuos a empresas que se los retiren para otros fines como es la elaboración de harinas de pescado u obtención de sustancias funcionales como el quitosán (Adour *et al.*, 2008). Algunos de estos subproductos todavía poseen un alto valor biológico y pueden reciclarse para la alimentación de otros animales de interés (Lamas y Pascual, 1995), en este caso el pulpo vulgar, pero un reciclaje diferente a la clásica elaboración de harinas, de tal forma que se obtenga un producto estable, inocuo y con mayor valor nutricional. Es de sobra conocido, los problemas toxicológicos que implican la elaboración tradicional de harinas de pescado (Ockerman y Hansen, 1994) y que podría repercutir en la salud de los animales a criar, si bien, la información científica a este respecto es pobre.

El grupo de investigación de Galicia plantea utilizar una tecnología sencilla, conocida como ensilado (Ottati y Bello, 1990; Vizcarra-Magaña *et al.*, 1999), que permitiría mantener estos residuos de una forma estable sin pérdidas de sus nutrientes, si bien estas informaciones previas del valor biológico de los ensilados depende de diversos factores, entre ellos el tipo y estado de la materia prima. En este proyecto se plantea usar unas materias primas de forma monoespecífica sobre la que no existen informaciones o experimentos previos; además, se buscará un soporte físico basado en hidrocoloides que albergue sus nutrientes y puedan ser suministrados de forma sencilla a los pulpos en cautividad. A medida que evolucionen las investigaciones se replantearán nuevas estrategias para conseguir el fin establecido.

2.4.2. DESARROLLO DE ENSILADOS DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA PESQUERA.

ETPP-USC, CIMA, C.A. de Galicia.

MATERIAL Y METODOS.

a) Materias primas.

La elaboración de ensilados se realiza con excedentes de la industria pesquera litoral (Bacaladilla o Lirio *Micromesistius poutassou*) y partes de mejillón cocido (*Mytilus spp*) procedentes de cocederos, que no son aptos para consumo humano únicamente por el aspecto comercial, y que previamente habían sido congelados a -24°C . Las materias primas corresponden a la toma de muestras del año 2007.

b) Análisis bioquímicos de materias primas y de ensilados de pescado.

Se evalúan los siguientes parámetros físicos: en los ensilados se determina el pH, medición directa con pHmetro CRISON salvo en los 5 primeros días donde se toman 10 g de ensilado y 20 ml de agua destilada, se homogeniza con un Polytron KINEMATICA a 7000 rpm 1 min. y se procede a su lectura. Densidad del ensilado: aplicación directa de aerómetros ($^{\circ}\text{Baumé}$); grado de viscosidad empleando un viscosímetro rotativo VISCOLAB.

Los parámetros químicos empleados se clasifican como indicadores de alteración: TVB (Antonacopoulos y Vyncke, 1989) y aminos biógenos mediante técnica HPLC empleando gradiente y detección fluorimétrica (Veciana *et al.*, 1995); composición elemental: los indicados en el apartado b) de material y métodos, apartado 3.4.1

Relación NNP/NT; el nitrógeno total (NT) se calcula según el procedimiento de análisis de proteína bruta Kjeldhal pero sin aplicar el factor $\times 6,25$ (AOAC, 1996). El nitrógeno no proteico (NNP: pequeños péptidos, aminoácidos libres, aminos), según Ke *et al.* (1990), se evalúa realizando un extracto ácido TCA al 5% a partir de 10 g de muestra biológica. Una alícuota de 5 ml de digiere de forma similar al procedimiento Kjeldahl de proteínas, calculando el contenido de nitrógeno.

c) Análisis estadístico. Todos los análisis se realizan por triplicado, salvo que se indique lo contrario. En el caso de materias primas se tomaron por cada réplica un puñado de las mismas, con lo que cada *pool* de mejillones (cocidos) representa unos 20-25 individuos o sus partes, pota (indeterminado, en torno a 100 g), crustáceos 10-12 cabezas, bacaladilla 4-5 individuos y patexo 6-9 ejemplares (sólo partes blandas del cefalotórax). Se aplicó un test de Rango Múltiple de Duncan en aquellos parámetros que presentaron diferencias significativas según un análisis de Varianza de una vía ($\alpha=0,05$)

d) Ensilados de materias primas. Año 2007-2008.

d.1) Optimización del proceso de ensilado

Se elaboran ensilados de tipo biológico (microbiológico) y químico empleando como materia prima en el ensayo de optimización la bacaladilla.

a.1) Ensilados biológicos (EBL).

En un *pool* de 10 kg de restos de pescado (tamaño partícula 3-4 cm), se realizan 2 sublotes empleando *Lactobacillus plantarum* al 1% ($1,0 \times 10^{11}$ ufc/kg pescado) como organismo starter:

- Sublote EBL1. al *pool* se incorpora 10% de fuente de hidrato de carbono (jarabe de glucosa).
- Sublote EBL2. al *pool* se incorpora 20% de jarabe de glucosa.

a.2) Ensilados químicos (EQL):

En un *pool* de 10 kg de restos de pescado (tamaño 3-4 cm) se incorporan los siguientes ácidos:

- ácido fórmico (adición 1 y 3 % sobre el *pool*, lotes EQL-f1 y EQL-f3, respectivamente),
- ácido fosfórico (1 y 3 %, EQL-p1 y EQL-p3, respectivamente).

Todos los ensilados se almacenan a temperatura ambiente, revolviendo la mezcla cada 12 horas los dos primeros días. Los ensilados se mantienen por un periodo de tres meses.

Para evaluar la aptitud del ensilado desde un punto de vista nutricional, se estudia el contenido proteico y la relación nitrógeno-no-proteico (NNP)/nitrógeno-proteína (NP), la formación de bases volátiles (TVB) y aminas biógenas de alteración.

Los parámetros físicos de pH y grado de viscosidad-densidad de la masa (°Baumée) nos indican la velocidad de licuefacción del ensilado y estabilidad del mismo.

d.2) Ensilado de materias primas

El proceso optimizado de ensilado desarrollado en la anterior tarea se aplica de nuevo a la bacaladilla y resto de las materias primas propuestas (20 kg/lote); el almacenamiento se realiza en depósitos de 30 l con tapa y a temperatura ambiente ($21,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$), durante un periodo de tres meses.

- I. Ensilado Bacaladilla (lote EQL2)
- II. Ensilado Crustáceos (EQG)
- III. Ensilado Mejillón (EQM)
- IV. Ensilado Pota (EQP)

Se realizan análisis sobre: composición elemental, NNP/NT, aminas y ácidos grasos a día 0, 15, 30, 60 y 90.

RESULTADOS Y DISCUSION.

a) Optimización del proceso de ensilado.

A continuación se exponen los resultados de los parámetros físicos evaluados durante el periodo de ensilaje. En la Figura 3 se refleja la tendencia del pH a lo largo de 90 días de almacenamiento.

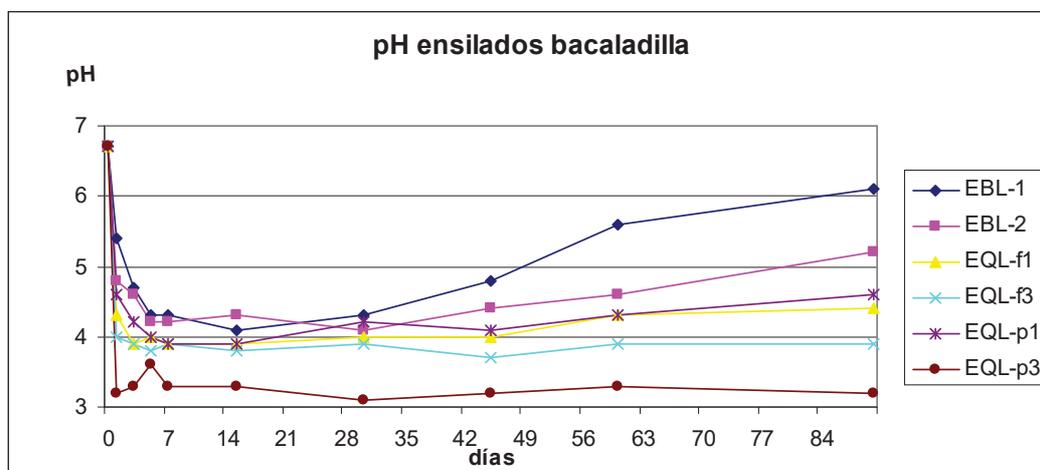


Figura 3. Evolución del pH durante el ensilaje de bacaladilla o lirio.

Sólo los ensilados químicos (ambos ácidos) al 3% mantienen estable el pH a lo largo del tiempo y por debajo de pH 4; el resto de lotes lo hacen por encima de pH 4, incrementándose lentamente a lo largo del tiempo, más rápido en el caso de los ensilados microbiológicos (EBL); el uso de ácido al 1% no es eficaz a la hora de disminuir el pH y así evitar la putrefacción. El mantenimiento del valor de pH por debajo de 4,0 va asociado a una mayor lisis muscular lo cual favorece la licuefacción del ensilado, con olores neutros hasta el final del estudio. En el caso del lote EQL-p3, la acidez del medio no ayuda a mejorar la velocidad de licuefacción del medio, probablemente ya que las proteasas titulares acidófilas se hallen en el pH límite de su actividad óptima. El grado de licuefacción se considera óptimo cuando su densidad se halla en torno a 10°baumé, que en el caso del ensilado químico con ácido fórmico al 3% es a los 30 días, a temperatura ambiente de entre 17 y 22°C.

En los ensilados microbiológicos, el olor ácido inicial (que recuerda a productos de industrias lácteas) pasa a manifestarse como sensaciones amoniacales y putrefactivas a partir del día 30, sin llegar a una licuefacción adecuada (21,2°Baumé).

Los ensilados ácidos al 1% y microbiológicos no acidifican suficientemente el medio (pH>4) lo que favorece el desarrollo de bacterias anaerobias alterantes, como lo manifiesta la presencia del incremento del valor del nitrógeno de bases volátiles totales (TVB, Figura 4), en cuya formación también pueden participar las proteasas propias del pescado, y las aminas biógenas (especialmente cadaverina, figura 5).

El ligero incremento generado de nitrógeno de TVB en los lotes químicos EQL-f3 y EQL-p3, puede ser debido a la actividad proteolítica. Por otro lado, la presencia de determinadas aminas biógenas, al ser indicadoras de actividad bacteriana, cantidades importantes de las mismas indican que persisten microorganismos alterantes, destacando entre las aminas estudiadas (putrescina, serotonina, agmatina, histamina, tiramina, feniletilamina, cadaverina, triptamina, espermidina y espermina) la formación de cadaverina hasta el final del periodo de estudio (figura 5), seguida por la putrescina. Otras aminas como histamina, espermidina y espermina permanecen constantes durante todo el estudio. Triptamina, tiramina, serotonina y feniletilmania no se forman.

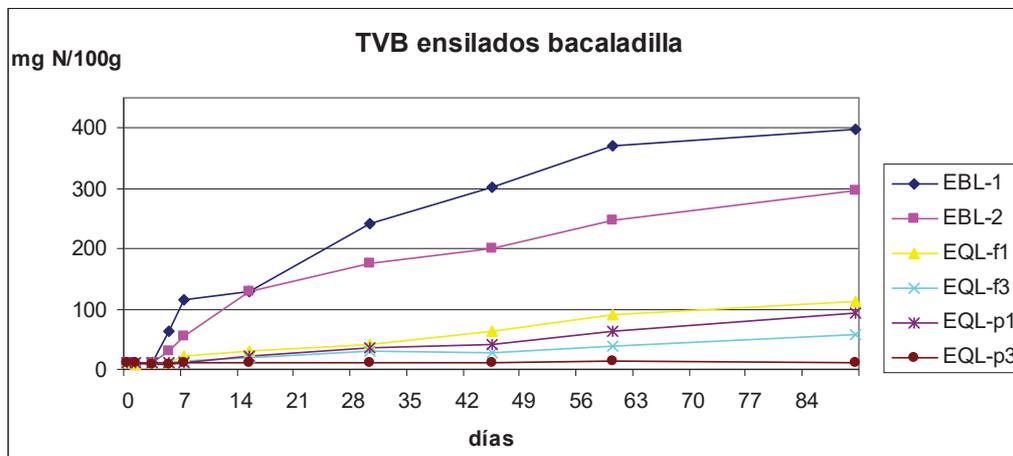


Figura 4. Formación de bases volátiles durante el ensilaje de bacaladilla o lirio.

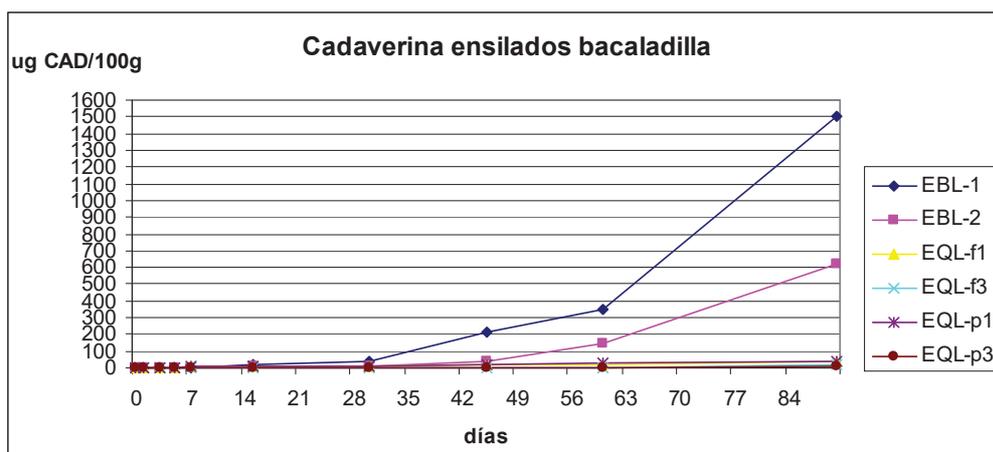


Figura 5. Formación de Cadaverina durante el periodo de ensilaje de bacaladilla.

En la Figura 6 se muestran la relación de las diferentes fracciones nitrogenadas del ensilado químico de bacaladilla. El nitrógeno total se mantiene estable a lo largo de 2 meses, a los 15 días el nitrógeno proteico y no proteico se equilibran, posteriormente la tasa de nitrógeno no proteico aumenta paulatinamente hasta los 60 días de almacenamiento, durante este periodo de nitrógeno amoniacal (parámetro de alteración) es prácticamente inexistente.

Los resultados del ensilado químico de bacaladilla realizado con ácido fórmico al 3% (lote EQL-f3) ha resultado ser el más estable a lo largo del periodo de almacenamiento a la vez que es el que mejor mantiene sus cualidades sensoriales y nutricionales.

El ensilado químico realizado con mejillón cocido tarda más en licuar, probablemente debido a la desnaturalización de los enzimas del mejillón, a pesar de que el pH observado está por debajo de 4.0, permanece como una masa densa a día 35 (>39°Baumé). La licuefacción más rápida ocurre en el ensilado de gambas (a los 7-15 días tiene 15°Baumé).

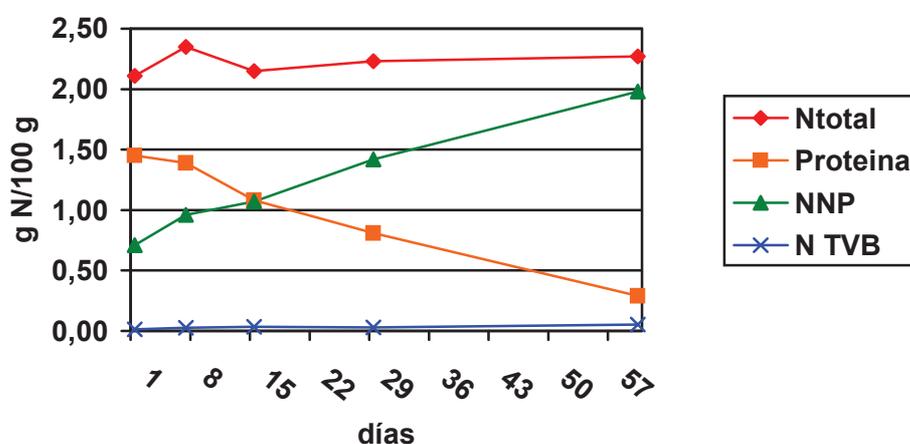


Figura 6. Evolución de las fracciones nitrogenadas de ensilado químico de lirio.

En vista de que el ensilado de mejillón no ensila de la forma esperada (al igual que el de cabezas de langostinos y pota) y dada su riqueza nutricional, se plantea realizar nuevos ensayos de ensilaje mezclando mejillón (aportaría minerales, ácidos grasos y colesterol) y bacaladilla (que compensaría con más proteína).

b) Ensilado a partir de subproductos de la industria pesquera.

En el segundo año de proyecto fue complicado conseguir residuos de crustáceos y pota, ya que son revalorizados por parte de otras industrias transformadoras, por lo cual se descartó su ensilaje al poder presentar futuros problemas de suministro. Para realizar los cebos para la alimentación del pulpo, se procedió a la elaboración de ensilados químicos:

- 1) a base de lirio
- 2) mezcla 1:1 de lirio:mejillón.

Los resultados de los análisis químicos de los 2 tipos de ensilados químicos se muestran en la Tabla X.

Como podemos observar a la vista de los resultados, los valores de TVB son mayores para el caso del ensilado de lirio, puesto que en el ensilado de lirio:mejillón, el mejillón del que partimos procedía de un cocedero, lo que implica que en esta materia prima los enzimas que generan los compuestos nitrogenados volátiles están inactivados, de ahí que se observen menores valores de TVB para el ensilado que contiene mejillón. Los valores de TBA se explican desde el punto de vista del contenido graso de la materia prima de la que partimos, es decir, como el mejillón tiene mayor contenido graso que el lirio, éste puede sufrir mayor oxidación lipídica (medida por el índice de TBA) y de ahí que el ensilado que contiene mejillón alcance valores más altos de TBA que el que contiene sólo lirio. Por otro lado, el NT se mantiene en ambos ensilados, un 0,1% superior en el caso del ensilado de lirio, si bien no se observan diferencias significativas entre ambos ensayos. Sin embargo, la pérdida de actividad enzimática en el ensilado (menor tasa de pescado fresco) se

manifiesta en el lote de ensilado Lirio:mejillón, al presentar diferencias significativas respecto a la formación de NNP, lo cual se traduce en una mayor tasa de proteína como tal (NP).

Tabla X. Resultados químicos de ensilado de lirio y de lirio:mejillón (1:1).

Días	Lirio					
	pH	TVB ⁺	TBA ¹	NT*	NNP*	NP*
1	3,56 ^a	14,02 ^a	0,689 ^a	2,65 ^a	0,04 ^a	2,61 ^a
2	3,69 ^{a,b}	17,37 ^a	0,88 ^a	2,60 ^a	0,66 ^b	1,94 ^{a,b}
9	3,83 ^{a,b}	36,46 ^b	1,398 ^a	2,53 ^a	1,15 ^c	1,38 ^b
26	3,92 ^b	49,98 ^c	0,762 ^a	2,58 ^a	1,52 ^d	1,06 ^b
			Lirio:mejillón			
1	3,32 ^a	9,56 ^a	3,544 ^a	2,48 ^a	0,03 ^a	2,45 ^a
2	3,37 ^a	8,32 ^a	3,990 ^a	2,43 ^a	0,56 ^b	1,87 ^b
9	3,42 ^{a,b}	16,56 ^b	4,393 ^a	2,59 ^a	1,01 ^c	1,58 ^b
26	3,58 ^b	21,49 ^b	3,38 ^a	2,53 ^a	1,27 ^c	1,26 ^c

TBA: ¹, índice de TBA (mg TBARS /kg); ⁺, TVB (mg N/100g); * g N/100g. Letras en minúscula diferentes en superíndice indican diferencias significativas (p>0,05) entre los datos de una misma columna y para cada ensilado.

2.4.3. Desarrollo de cebos a base de ensilado y pasta de pescado con hidrocoloides de naturaleza glucídica para pruebas de engorde.

ETPP-USC, CIMA, C.A. de Galicia. Colaboran CEP (Asturias), ICCM (Canarias).

MATERIAL Y METODOS.

a) Materias primas. Los pescados empleados son mejillón cocido procedente de los restos no comerciales de cocederos, bacaladilla fresca (*Micromesistius poutassou*) de la flota de arrastre de Celeiro y cangrejo (*Carcinus maenas*) facilitado por el equipo de investigación de Asturias. Todas las muestras biológicas se congelan a vacío y -24°C hasta su elaboración para ensilados o pastas. También se emplea para la elaboración del cebo *surimi*, pasta de pescado ya preparada, facilitada por empresas transformadoras de pescado.

Los hidrocoloides de naturaleza glucídica y aditivos empleados para el desarrollo de experiencias de cebos son obtenidos de diferentes casas comerciales, aromas de langosta y sepia de Givaudan, Pokel Merl, C-Polar Tex (carragenato de Kappa), carragenato lota, goma xantana, goma garrofín y goma guar de Cargill, almidón modificado (HASENOSA) y sulfato de calcio 2-hidrato de PANREAC.

b) Análisis bioquímicos. Composición elemental, fracción nitrogenada, ácidos grasos y TVB. Ver apartado b) de experiencia 3.4.1 (material y métodos).

c) Desarrollo de productos termoformados (cebos) a base de hidrocoloides glucídicos.

Se desarrolla un producto semisólido, de aspecto gomoso, empleando las siguientes gomas o hidrocoloides o las mezclas de éstas: Goma guar, goma xantana, goma garrofín, carragenato de Kappa, carragenato lota, alginato sódico, almidón modificado, concentrado de proteína de soja, y productos comerciales Pokel Merl®, C-Polar Tex®. El fin es obtener un soporte físico que en el medio marino retenga los nutrientes y que permita la liberación de sustancias aromáticas, que no flote, que sea fácil de manipular por el operario, y que sea fácil al corte por el pulpo. De forma mecánica artificial se realizan experiencias en este sentido para lograr tal fin.

Durante los primeros ensayos se elaboran cilindros de 6 cm de diámetro por 15 cm de largo. Los hidrocoloides que precisen calor, se disuelven en ¼ del agua a emplear y se completa con agua a temperatura ambiente, dejando enfriar en nevera (4°C) hasta su completa gelificación. La proporción total de hidrocoloide o sus mezclas en agua varía del 0,15% al 2,0%, hasta conseguir una estructura firme, resistente a una presión suave (fuerza 80°bloom, evaluado mediante texturómetro TA.XTplus), sin deformaciones o roturas por presión manual, y que sea limpio al corte (sin desgarros) de un simple cuchillo.

Los hidrocoloides seleccionados se mezclan en diferentes proporciones del ensilado (25-80%). Así, ¼ del ensilado se calienta con el fin de disolver previamente la mezcla de hidrocoloides, añadiendo el porcentaje de ensilado restante y posteriormente se mantiene en cámara fría a 4°C toda la noche. Las características físicas de la mezcla ensilado:hidrocoloides son las mismas que las indicadas en párrafos anteriores.

Una porción de cada ensilado se neutraliza hasta un pH entre 5,5 y 7 con diferentes agentes alcalinizantes (NaOH, Fosfato potásico; acetato de sodio), puesto que al tratarse de un producto con pH en torno a 4 los hidrocoloides ensayados no gelifican. Una vez neutralizado, se combinó con la mezcla de aditivos y tras introducir la pasta resultante en una bolsa retráctil y dentro de un recipiente adecuado de acero inoxidable, se coció hasta alcanzar el centro del cebo una temperatura de 80 °C lo que nos aseguró una gelificación adecuada, enfriándolo rápidamente en un baño de hielo con agitación.

La realización del cebo se realiza según describe López *et al.* (2009), para cuya composición (ver Tabla XI), se aplica un 14% de una mezcla de aditivos (Mezcla A), correspondiente a una formulación comercial aplicada a productos cárnicos, formado por: carragenato Kappa 0,2%, concentrado de proteína de soja 2,3%, goma garrofín 0,2% y tripolifosfato 0,5% y *surimi*, sobre la masa total (cebos 1 a 2). Se realizaron otros cebos de la misma forma anteriormente descrita, a los cuales se le añadieron 2% de Aromas de sepia y de langosta (marca comercial GIVAUDAN®) a fin de hacer un producto con un poder atrayente para el pulpo desde el punto de vista sensorial (cebos 3 y 4). Se repiten las experiencias con materias primas de invierno: Cebos 7 y 8.

Tabla XI. Composición de cebos elaborados a partir de Ensilados de pescado.

Cebo	Ensilado lirio	Ensilado lirio:mejillón	Aroma Givaudan sepia	Givaudan langosta
Cebos con 14% de mezcla hidrocoloides mezcla A				
1	X			
2		X		
3	X		X	
4		X		X
7	X			
8		X		
Cebos con 2% de mezcla hidrocoloides mezcla B				
5	X			
6		X		

Paralelamente a estas pruebas, se realizan otros dos cebos con 2% de mezcla de aditivos (mezcla B): carragenato Kappa, goma xantana y goma garrofín (1:0,5:0,5). El cebo elaborado con esta mezcla B se preparaba añadiendo los aditivos al ensilado previamente calentado a ebullición y se homogeneizaba con una turmix para evitar así la formación de grumos. Cebos 5 y 6.

Otra experiencia implica secar el gel seleccionado, en estufa de aire forzado a una temperatura de 60-65°C, hasta una humedad del 13%.

Para la elaboración de los lotes de cebos a partir de pasta de pescado, las materias primas (bacaladilla entera, mejillón cocido, cangrejo entero) se pican a través de una picadora MAINCA de la industria cárnica a través de una rejilla de salida de 5 mm de diámetro de poro, mezclándolos con diferentes ligantes o hidrocoloides (ver Tabla XII). Los cebos a base de pasta de pescado se procesan en caliente, usando 14% de Mezcla A y posterior gelificación a 80°C, tal y como se ha descrito anteriormente.

Tabla XII. Composición (%) de materias primas en cebos elaborados a partir de pasta de pescado.

CEBO	LIRIO	MEJILLÓN	CANGREJO
11	100	-	-
12	80	20	-
13	50	50	-
14	40	30	30
15	-	50	50

Estos cebos se envían a los grupos de investigación de Asturias y Canarias para los correspondientes estudios de aceptación y engorde.

RESULTADOS Y DISCUSION.

a) Desarrollo de soportes físicos para retener nutrientes de ensilados.

De las mezclas de hidrocoloides desarrolladas inicialmente en agua, la mezcla resultante ideal está compuesta por carragenato (0,5%), xantana (0,25%) y garrofín (0,25%).

La combinación que más se ajusta a las características anteriores se mezcla en diferentes proporciones con el ensilado químico obtenido de bacaladilla. Las primeras pruebas ofrecen resultados negativos, ya que la estructura no gelificaba (se desmoronaba al desmoldear), atribuyéndolo al pH ácido del ensilado (en torno a 4,0), pues el control (hidrocoloide:ensilado 100:0, pH 6,5) era el único experimento que gelificaba.

En siguientes experiencias, antes de mezclar el ensilado con el hidrocoloide, el pH del ensilado se aumenta hasta un valor comprendido entre 5,5 y 6,2 (el habitual en los productos pesqueros), repitiendo la experiencia anterior de mezclado con hidrocoloides. En este caso si existe gelificación hasta la incorporación de un 70% de ensilado. Tasas más elevadas de ensilado debilitan la fuerza del gel.

El cebo incluido en agua salada (3,5% ClNa) aguanta bien su estructura sin deformarse o aumentar demasiado de tamaño al cabo de 24 horas, al mismo tiempo libera sustancias aromáticas como se puede observar por el color ligeramente amarillento que se aprecia en el agua (sin ningún tipo de agitación o flujo) y el olor. Además, su caída en la columna de agua es lenta, lo cual podría facilitar la estimulación visual del pulpo.

Los productos desecados hasta una humedad del 13% son más fáciles de transportar y de preservar, se trocean y se analiza TVB, composición elemental, ácidos grasos y aminoácidos libres. Estos dos últimos parámetros son de gran ayuda para evaluar la calidad nutricional de los cebos, ya que el proceso de ensilado y el de secado del gel pueden favorecer oxidaciones y pérdidas de nutrientes, probablemente como resultado de la reacción de aminos/aminoácidos del ensilado con los monosacáridos de los hidrocoloides (reacción de Maillard).

Otra mezcla de aditivos ensayada (Mezcla A) es tomada de la Industria transformadora de productos cárnicos (fiambres), que tras mezclar con el ensilado, el gel resultante es firme pero con una textura ligeramente blanda, y más fácil de disgregar manualmente si se compara con los geles correspondientes a los hidrocoloides de la Mezcla B.

Tras neutralizar los ensilados, para la realización de diferentes lotes de cebo, se emplearon 2 mezclas de hidrocoloides (Mezcla A y B) y atrayentes comerciales de aroma de langosta y sepia, lotes cuyos resultados químicos se muestran en la Tabla XIII. La textura de los cebos posee una estructura firme, ligeramente dura, quebradiza que en nuestra opinión era la adecuada para la alimentación del pulpo. Además con la temperatura de cocción a 80°C (la más baja con la que pudimos trabajar para la completa gelificación de los hidrocoloides) se minimizan las posibles pérdidas de nutrientes y se evita la aparición de aromas anómalos que pudieran provocar el rechazo en el pulpo.

No existen diferencias significativas entre las muestras de lirio:mejillón con y sin aroma (cebos 2 y 4) al igual que ocurre entre los cebos de lirio (cebos 1 y 3); sin embargo, tal y como ocurría para el caso del ensilado, los valores de TVB son superiores para el cebo elaborado con ensilado de lirio como materia prima.

Tabla XIII. Composición elemental, fracción nitrogenada y BVT de cebos a base de ensilados con mezcla de aditivos A y B.

CEBO	H*	C*	G*	P*	NT**	NNP**	NP**	TVB***
1	68,27	7,92	1,56	16,69	2,67	0,87	1,80	33,96
2	68,58	7,07	1,37	16,31	2,61	0,79	1,82	17,43
3	66,91	8,69	0,77	17,19	2,75	0,99	1,76	35,82
4	68,53	6,99	1,35	16,31	2,61	0,79	1,82	19,02
5	71,22	7,87	1,59	15,69	2,51	0,59	1,92	35,01
6	72,09	6,85	2,12	15,00	2,40	0,66	1,74	17,40
7	69,02	6,87	1,21	17,50	2,80	0,62	2,18	26,67
8	67,83	7,31	1,82	18,06	2,89	0,52	2,37	17,65

H: Humedad, C: Cenizas; G: grasa; P: proteína bruta; NT: Nitrógeno total; NNP: Nitrógeno no proteico; NP: Nitrógeno Proteico; TVB: Bases nitrogenadas volátiles totales .

* expresado como g/100g; ** expresado como g N/100g; *** expresado como mg N BVT/100g.

Los cebos descritos fueron enviados a Asturias, Canarias y Murcia para averiguar si eran o no adecuados por su textura, y si el pulpo lo aceptaba o no. Como las cantidades enviadas eran pequeñas, (en principio se trataba sólo de juzgar su textura en pruebas preliminares de aceptación) se volvieron a repetir las pruebas de cebo con la mezcla de aditivos A, de mayor contenido proteico, puesto que el otro cebo elaborado con la mezcla B produciría un efecto “saciantes” en el pulpo y evitaba así la ingesta de alimento con la consiguiente pérdida de cebo en los estanques, pérdida de crecimiento y engorde de pulpo, objetivo principal en este proyecto.

Al comparar los resultados encontrados para el mismo cebo realizado con distinta materia prima, observamos que las diferencias en general no son significativas, a excepción del valor de TVB para el caso de los cebos 1 y 7, puesto que inicialmente tenía un valor de 33,96 y ahora ese valor ha disminuido hasta 26,67 mg/100 g. Así mismo, el valor del contenido graso del cebo elaborado con ensilado de lirio:mejillón (cebos 2 y 8) ha aumentado ligeramente, debido al mayor porcentaje de grasa que contiene el mejillón seleccionado para el cebo 8. Se observa que la tasa proteica se mantiene en todos los lotes a excepción de los lotes Cebos 5 y 6, elaborados con una tasa inferior de aditivos sin proteína añadida (mezcla B), dado que la Mezcla A posee entre sus componentes proteína de soja, de ahí el ligero incremento de este nutriente. Sin embargo, la proteína bruta es el reflejo de la conversión del valor de NT por el factor 6,25, al cual si le

sustraemos el NNP, da un valor más real del contenido de masa proteica (NP). Los valores de NP en los lotes elaborados con materias primas de invierno (cebos 7 y 8) son significativamente superiores a los demás lotes, especialmente los elaborados en condiciones similares (materia prima de época estival), lo cual indica que la materia prima poseía un mayor grado de frescura, por lo cual sus componentes nitrogenados tenían un menor grado de alteración, tal y como reflejan los valores de NNP y TVB, más bajos respecto a los demás cebos. En cualquier caso, la presencia de mayor tasa de bacaladilla en los cebos, implica una mayor tasa de NNP y TVB con respecto a los cebos homólogos que emplean un 50% de mejillón en su composición.

b) Cebos elaborados a base de pasta de subproductos de la industria pesquera.

Los cebos de ensilados se comparan con cebos elaborados a base de pasta de pescado, concretamente, bacaladilla (lirio), mejillón cocido y cangrejo común recogidos en época hibernal. Para su reestructuración se emplea un 14% de mezcla A de aditivos como se explicó anteriormente. El cebo obtenido con pasta de pescado tiene una textura más dura y firme que el elaborado con el ensilado (tanto los cebos de lirio como de lirio:mejillón), cuya textura, aunque firme y consistente, era mucho más blanda. Además, en el caso de cebos desarrollados a partir de ensilados, la mejor textura se consigue con la Mezcla B, más firme y cohesivo pero frágil (fractura con baja presión); la mezcla A da cebos de ensilado más quebradizos. La composición de estos cebos desarrollados a base de pasta de pescado se muestra en la Tabla XIV.

Tabla XIV. Composición elemental, fracción nitrogenada y BVT de cebos a base de pasta de pescado con mezcla de aditivos A, a partir de materias primas de invierno.

CEBO	H*	C*	G*	P*	NT**	NNP**	NP**	TVB***
11	68,95	5,06	1,50	18,56	2,97	0,37	2,60	26,60
12	69,61	5,19	1,24	17,68	2,83	0,38	2,45	21,79
13	70,46	4,35	1,74	17,50	2,80	0,27	2,53	14,19
14	69,20	9,96	1,62	14,75	2,36	-	-	-
15	69,33	11,48	1,14	12,19	1,95	-	-	-

H: Humedad, **C:** Cenizas; **G:** grasa; **P:** proteína bruta; **NT:** Nitrógeno total; **NNP:** Nitrógeno no proteico; **NP:** Nitrógeno Proteico; **TVB:** Bases nitrogenadas volátiles totales .

* expresado como g/100g; ** expresado como g N/100g; *** expresado como mg N BVT/100g.

El valor de TVB es menor en el cebo elaborado con cangrejo y al contrario mayor en el caso del lote desarrollado con lirio al 100%; esto puede ser debido a que los principales enzimas formadores de los compuestos nitrogenados volátiles son más abundantes en el músculo y vísceras de pescado, siendo el aporte del cangrejo mucho menor, al tener una fracción muscular baja, lo que implica que tiene menor cantidad de enzimas que actúan degradando el producto y aumentando el valor de TVB. Por otro lado, para agilizar su manipulación durante el proceso de elaboración de los cebos, su carne va acompañada de una gran fracción de endoesqueleto, de ahí que los cebos 15 y 16 presenten mayor tasa de cenizas, lo que al final repercute en la tasa proteica, las más pequeñas significativamente respecto a los demás cebos elaborados a base de pasta de pescado. El resto de constituyentes nutricionales (lípidos) son similares entre los diferentes lotes.

El análisis de ácidos grasos (AG, Tabla XV) de las materias primas, del cebo realizado con pasta y mezcla de aditivos A: fiambre lirio 100% (o cebo 11) y fiambre de lirio:mejillón (fiambre lirio

mej 50:50 o cebo 13); y cebo elaborado con ensilado neutralizado de lirio (Lirio G2% o cebo 5) y lirio:mejillón (lir-mej G2% o cebo 6) a los que se le añadió un 2% de una mezcla B (carragenato de Kappa, de goma guar y de goma garrofin; 1:0.5:0.5).

Comparando los datos de las materias primas (junto por los resultados indicados por el grupo de Canarias, quién analiza los AG de todos los participantes en el proyecto por otra metodología) con sus respectivos fiambres, podemos primero indicar que en el caso de las materias primas, el lirio carece de los AG 16:2n4, 18:4n1, 20:1n5, 20:2n9, 20:3n9, 20:3n6, 20:1n11, 22:1n6, 22:2n6 y 22:3n6, mientras que el mejillón carece del 16:3n1, 20:3n3 y 20:4n3. El mejillón aporta una mayor riqueza en diferentes ácidos grasos, que por otro lado, la mezcla de materias primas compensaría la carencia que presenta cada una de ellas.

En segundo lugar, respecto con los cebos artificiales, en el cebo de lirio desaparece el 22:1n7, con un detrimento importante del 22:5n3. En el cebo mezcla de ambas especies, los AG 18:2n3 y 22:3n6 desaparecen, mientras que los AG 16:2n4 y 20:1n11 sufren un ligero descenso. Salvo estos casos, el resto de AG se mantiene en los niveles esperados en base a las materias primas utilizadas. Esto indica por un lado que el proceso de ensilaje no es tan agresivo como para destruir los AG y por otro lado, el tratamiento térmico aplicado sólo afecta a una pequeña cantidad de AG. Así mismo, indicar que tampoco hemos observado grandes variaciones en los datos obtenidos de macronutrientes entre materias primas y cebo desarrollados (López *et al.*, 2009).

Tabla XV. Resultados del contenido ácidos grasos ($\mu\text{g}/\text{mg}$ peso fresco) de las materias primas de Invierno y cebos elaborados con éstas a partir de pasta (fiambre Lirio y Fiambre Lirio-Mej, 06/03/2008) y de los ensilados (Lirio G2% y Lirio-Mej G2%).

Ácido graso	06/03/2008				06/03/2008			
	Bacaladilla Invierno	Cangrejo Invierno	Mejillón Invierno	Fiambre Lirio	Lirio G2%	Fiambre Lirio-Mej	Lirio-Mej G2%	
AG 14:0	3,6	1,7	5,2	2,9	3,1	3,5	3,6	
AG 15:0	0,8	1,1	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8	
AG 16:0	17,0	18,4	20,3	19,2	19,1	20,0	19,8	
AG 16:1n7	4,4	5,7	9,8	4,5	4,7	6,7	6,8	
AG 16:2n4	---	---	1,0	---	---	0,7	0,6	
AG 18:0	6,3	8,3	4,8	6,3	6,5	5,8	5,8	
AG 18:1n9	15,9	12,3	2,2	20,2	19,9	12,5	11,8	
AG 18:1n7	4,4	5,9	3,4	4,5	4,3	3,6	3,9	
AG 18:2n6	1,6	1,0	1,3	4,7	1,6	4,6	2,1	
AG 18:2n3	---	---	0,9	---	---	---	---	
AG 18:3n3	0,8	1,4	0,8	0,9	0,6	1,0	0,9	
AG 18:4n3	1,3	2,3	1,6	0,9	0,9	1,8	2,0	
AG 20:1n11	---	---	1,2	---	---	0,1	n.d.	
AG 20:1n9	3,9	1,2	2,0	2,6	3,1	2,5	2,9	
AG 20:1n7	0,4	2,3	1,8	---	---	0,8	0,9	
AG 20:2n6	0,2	1,3	0,5	0,3	0,3	0,5	0,5	
AG 20:4n6	2,0	7,8	4,1	1,8	1,8	2,4	2,7	
AG 20:4n3	0,3	---	---	0,3	0,3	0,2	0,3	
AG 20:5n3	10,8	15,1	27,5	9,4	9,9	15,8	16,8	
AG 22:1	1,4	2,5	---	1,1	1,2	0,5	0,5	
AG 22:2	---	---	2,6	---	---	0,8	1,0	
AG 22:3	---	---	0,7	---	---	---	---	
AG 22:5n3	0,9	2,6	1,9	0,3	0,5	0,7	0,9	
AG 22:6n3	24,1	9,1	5,8	19,5	21,4	14,8	15,4	
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	
Total AG (microg/mg peso fresco)	11,12	5,06	17,43	10,00	9,99	10,93	11,71	

* (---) no detectado

A continuación exponemos un cuadro resumen (Tabla XVI) de los resultados de aceptabilidad y engorde de los cebos elaborado por USC (cebos 5, 6, 11 y 13) y remitidos por el grupo de investigación de Canarias.

Tabla XVI. Aceptación Pienso Galicia junio 2008 y engorde de pulpo en cautividad (duración del ensayo 7 días).

	Lirio-Mejillón			Ensilados	
	50-50%	80-20%	100-0%	Mejillón	Lirio
Peso Inicial (g.)	1833 ± 600	1935 ± 424	1695 ± 653	1905 ± 304	1974 ± 387
IPD (g./día)	-91 ± 58	-84 ± 53	-98 ± 46	-49 ± 16	-82 ± 17
Ingesta diaria (g.)	0	0	2,1 ± 2,6	0	0
Aceptación	Nula	Visual-Nula	Visual-Subópt.	Nula	Nula

Características físicas del pienso	<p>Buen aspecto fuera del agua, pero elevada disgregación tras manipulación del pulpo. Se hidrata tras 24 horas en agua y flota (sobre todo los que incluían mejillón), cosa que dificulta su aceptación si no es capturado inmediatamente. Aceptación baja, visual en la mayoría de los casos</p>	<p>Muy blando, tras 24 horas en agua tipo "paté"... sin embargo presenta una flotabilidad negativa ideal. Aceptación nula.</p>
------------------------------------	--	--

Los primeros ensayos de aceptabilidad y engorde muestran que los cebos elaborados con ensilado no son adecuados y sólo en el caso de cebo elaborado a partir de pasta de pescado (100% lirio) ofrece ciertas esperanzas, si bien su ingesta y tasa de crecimiento es muy baja comparada con dietas naturales.

El grupo de investigación de Asturias, rechaza los lotes 1 y 2 (ensilados de lirio y lirio:mejillón con mezcla A) ya que se desmoronan al poco tiempo de su permanencia y manipulación por el pulpo. En el caso de los ensilados 5 y 6, también elaborados a base de ensilados de lirio y lirio:mejillón, respectivamente, pero con Mezcla B de hidrocoloides mantienen mejor su estructura. En la figura 7, se muestra el crecimiento en peso de muestras de pulpo alimentadas con Cebo a base de pasta, cebo 11 (experiencia 1) en función del sexo y tamaño de los ejemplares de pulpo; y cebos 14 (T2M) y 15 (T3M) en la experiencia 2, comparándolos con una dieta natural a base de mejillón, lirio y cangrejo (T1M). En todos los casos y hasta el final del estudio, los ejemplares de pulpo pierden peso, a excepción de las hembras de la experiencia 1, donde se observa un incremento significativo a los 17 días, para perder peso al finalizar la experiencia (28 días).

Además, los lotes de cebo desarrollados con pasta de pescado y la Mezcla A de hidrocoloides al cabo del tiempo (24 horas) presentan flotabilidad, sobre todo las muestras que contiene mejillón, lo cual los hace poco prácticos para el engorde.

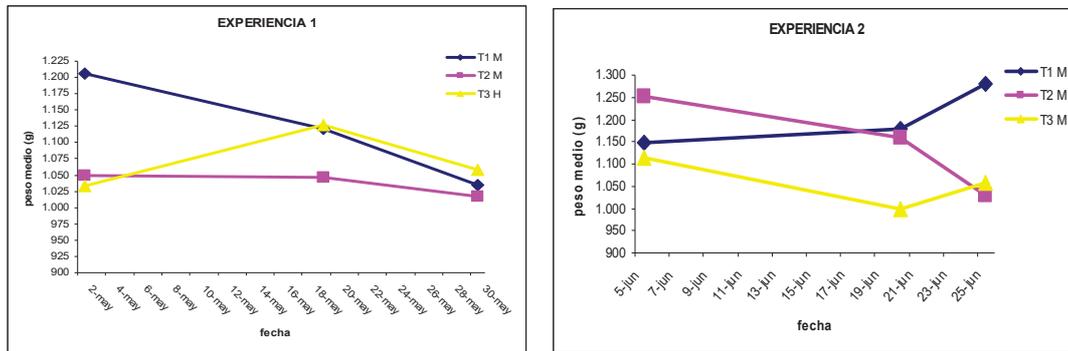


Figura 7.- Resultados de engorde con los cebos 2, en la experiencia 1 y 8 y 9, en la experiencia 2.

Tras los resultados negativos comentados por el grupo de Asturias (López *et al.*, 2009) y Canarias, se replantea el trabajo de tal forma que los nuevos ensayos se orientan a formulaciones basadas en pastas de pescado, que presenten una textura más firme y dura, del tipo de una mortadela, minimizando el uso de los hidrocoloides de naturaleza hidrocarbonada pues parece que evitan el engorde del pulpo si se compara con la alimentación con los peces muertos (cebo natural), al crear un efecto “saciante”, trabajando en mayor parte con concentrados y proteínas de soja, así como albúminas, lo que aportará una mayor cantidad de proteína y esperando que favorezca el engorde del pulpo. Por otro lado, comentarios de los grupos de investigación implicados y las opiniones vertidas por algunos autores en publicaciones científicas recientes (Domingues *et al.*, 2009), sospecha que el usar temperaturas de cocción pueden favorecer pérdidas de nutrientes esenciales, hecho que hemos observado en el caso de algunos AG, desnaturizar de tal forma los macronutrientes (proteínas) y/o generar algunas sustancias repelentes (aminas) y no ser asimiladas adecuadamente por el pulpo. En las siguientes experiencias se descarta emplear los ensilados para realizar cebos.

El empleo de estas materias primas, consideradas descartes o subproductos, en la elaboración de ensilados muestran una tasa de proteína estable a lo largo del proceso de ensilaje en el tiempo (90 días), pero es un valor irreal ya que esta proteína es transformada en fracciones no proteicas como pequeños péptidos aminoácidos libres y especialmente aminas, sobre todo en los ensilados microbiológicos, lo cual los hace inadecuados por la pérdida de aminoácidos. La tasa inicial de cadaverina a día 0 en ensilados de lirio es de 0,02 ppm, durante el proceso es obvio el incremento en los ensilados microbiológicos, especialmente a partir del día 30. Sin embargo, en los ensilados químicos, la tasa final de cadaverina no supera las 50 ppm (día 90), siendo menor en los lotes con ácido al 3% (10 ppm de cadaverina). La formación de esta amina se imputa a la actividad de algunas especies de bacterias acidolácticas y enterobacterias. Para evaluar el valor nutricional se estudia el contenido de aminoácidos libres. En los lotes de ensilado químico (3% de ácido fórmico) la lisina se mantiene entre el 2-3 mg/g a partir del día 30 y hasta el final del periodo de ensilado, mientras que en los ensilados microbiológicos de forma general, asciende durante el primer mes hasta los 4-5 mg/g para posteriormente descender hasta 0,4 mg/g, lo cual indica una utilización de este aminoácido por parte de las bacterias, de hecho es el precursor de la cadaverina.

Es obvio que los productos cocidos (mejillón, caparazones crustáceos) no ensilan adecuadamente al estar inactivadas sus enzimas por el calor, por lo cual es necesario realizar mezclas con materias primas frescas (peces), que aporten además proteína. Sin embargo, a la hora

de dar cuerpo (forma sólida, textura firme) a estas masas hidrolizadas (ensilados) es complejo ya que los hidrocoloides o ligantes necesarios para tal fin requieren pH cercanos a la neutralidad. Para no diluir demasiado los nutrientes de ensilado, el basificante más eficaz es NaOH en solución lo más concentrada posible, que por el contrario es un agente muy agresivo, saponificando lípidos y destruyendo nutrientes (de hecho el TVB aumenta, lo cual indica generación de amonio a partir de proteínas o aminoácidos). A esto hay que sumar el efector del calor a la hora de realizar los cebos imprescindible para conseguir la gelificación del ensilado neutralizado o pastas de pescado cuando se emplean hidrocoloides de naturaleza glucídica, que favorecen la pérdida de algunos ácidos grasos del grupo omega 3 y omega 6.

La pérdida de nutrientes, proteína y lípidos, ha sido observada en la trucha arcoiris (Tokur, 2007) cuando se somete a diversas formas de cocción, si bien en el caso de ácidos grasos estos autores lo expresan como equivalentes de ácido oleico. Por otro lado, Aubourg *et al.* (1997) sostienen que existe un incremento de ácidos grasos libres en el caso de atún sometido a esterilización a medida que se incrementan las condiciones de cocción, lo que muestra un deterioro del perfil lipídico tisular, el cual muestra una pérdida importante de los ácidos grasos poliinsaturados, especialmente 22:6n3 (DHA) y 20:5n3 (EPA), si bien la adición de aceite vegetal compensa en cierta medida esta pérdida de otros ácidos grasos, pero en nuestra opinión no tienen en cuenta las pérdidas de agua que tiene lugar durante el proceso de elaboración de conserva (factor que sí ha tenido en cuenta Tokur, 2007), con lo cual tanto la pérdida de la tasa proteica como lipídica puede ser mucho más acusada.

Por ello los ensilados, pese a pensar que al hidrolizar el pescado facilitarían la absorción de nutrientes, la textura del producto, las propiedades físicas y la pérdida de nutrientes los hacen poco adecuados para la alimentación de pulpos mediante dietas semihúmedas. Al igual que se deben rechazar los hidrocoloides que precisan de calor, proceso que desnaturalizan las proteínas, pudiendo afectar al proceso de digestión y posterior asimilación de nutrientes por parte del pulpo, entre otros factores. En cualquier caso, las dietas artificiales ensayadas con ensilado y pasta basados en lirio y mejillón, junto con hidrocoloides glucídicos, han dado unos resultados pésimos, con pérdida importante de masa corporal de los animales.

2.4.4. Desarrollo de cebos a base de pasta de pescado en frío para engorde de pulpo.

ETPP-USC, CIMA, C.A. de Galicia. Colabora IFAPA Centro “Agua del Pino” (Andalucía), IRTA (Cataluña).

MATERIAL Y METODOS

a) Materias primas.

La bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) y pota (*Todaropsis eblanae*) proceden de la flota de arrastre litoral de Celeiro. Previo a la elaboración de cebos, se envasa a vacío y congela a -24°C. La proteína de soja y concentrado de proteína de soja es facilitada por empresas del sector de auxiliares alimentarios (HASENOSA). Se adquiere alginato sódico comercial Pokel Merl®. Los aditivos restantes (gelatina porcina, alginato sódico y sulfato calcio 2-hidrato) se adquieren de PANREAC y Arginina y Colesterol de SIGMA.

b) Análisis fisicoquímicos.

Análisis de composición elemental, NNP, TVB y colesterol, según se ha descrito en el apartado b) de la experiencia 3.4.1. (Material y métodos), y las aminas biógenas según el apartado b) de la experiencia 3.4.2. (material y métodos).

Análisis de textura. Se realiza el Análisis de Perfil de Textura (TPA) empleando un texturómetro TA.XTplus de Stable Micro Systems. Se evalúa el comportamiento de pescado entero y muestras reestructuradas aplicando una fuerza de 5 g, empleando un 10, 20 y 50% de deformación de la muestra reestructurada. Se realizan moldes cilíndricos de 39 mm de alto por 37 mm de ancho, los cuales se dejan 24 horas en nevera (0-2°C) previo a sus posteriores análisis, momento que la muestra se atempera 10 min antes de su análisis. La sonda empleada es SMSP/50.

c) Desarrollo de cebos.

Las materias primas (bacaladilla entera, mejillón cocido, pota eviscerada) se pican a través de una picadora MAINCA de la industria cárnica a través de un rejilla con 5 mm de diámetro de poro. Sólo en el caso de la pota, la masa previamente picada se tritura de nuevo a través de una picadora con una potencia de trabajo a mayores revoluciones hasta obtener una papilla homogeneizada.

En base a los resultados de años anteriores y de los comentarios de los compañeros de otros grupos de investigación en las reuniones anuales, se redefinen nuevas estrategias. Se desarrollan cebos en frío a base de los siguientes ligantes: alginato sódico, gelatina 80° bloom y proteína de soja; se realizan diferentes ensayos entre el 0 y 20% de ligante de forma independiente. Se presta más atención a la incorporación del aminoácido Arginina y de Colesterol como nutrientes esenciales.

Tras picar el pescado, se añaden los hidrocoloides en polvo amasando la mezcla en refrigeración, en una amasadora cárnica MAINCA. La pasta obtenida se expande en cubetas con un

grosor de 40 mm. Se deja reposar 24 horas en nevera a 2-4°C. Las muestras se envasan a vacío y se congelan a -20°C.

Como pruebas preliminares, a fin de sustituir a los hidrocoloides de naturaleza hidrocarbonada que precisan de temperatura para cohesionar las partículas de pescado, se realizaron ensayos a pequeña escala con Alginato de sodio, C-Polar Tex[®], Pokel Merl[®] y Proteína de soja. Estos son emulsionantes que pueden ser manipulados a temperatura ambiente para la conformación del cebo, y que por otro lado aportan proteína en la mayor parte de los casos. Para estos ensayos, hemos empleado los aditivos al 2, 5, 10, 20%, sin mezclar entre ellos; en base a los resultados de textura y de comportamiento en agua marina (menor hidratación, mantenimiento estructura), se redefinen las proporciones entre los intervalos óptimos. En todos los casos, hemos utilizado una pasta de pescado (1:1) de lirio:mejillón (cocido), para realizar las pruebas, ya que por experiencias anteriores, los cebos elaborados con mayor tasa de mejillón cocido presentan unas cualidades de textura ligeramente débiles o inferiores a las mostradas con cebos elaborados sólo con lirio.

c.1) Estudio de engorde con cebos de Proteína de soja y atractantes.

En la Tabla XVII se indican las materias primas empleadas para la elaboración de cebos a partir de pasta de pescado usando ligantes o hidrocoloides proteicos en frío. Se usa la especie bacaladilla o lirio entero (sin picar) como lote control, previamente descongelado.

Tabla XVII. Composición (%) de materias primas y aditivos de cebos elaborados a base de pasta de pescado en frío..

<u>Lote</u>	<u>Lirio</u>	<u>Mejillón</u>	<u>Coles- tol</u>	<u>Arg⁺</u>	<u>TAU*</u>	<u>Prot. soja</u>	<u>Gelatina</u>
<u>Bacaladilla (control)</u>	<u>100</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
<u>LISOY 15-0</u>	<u>85</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>15</u>	<u>0</u>
<u>MESoy 15-0</u>	<u>42,5</u>	<u>42,5</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>15</u>	<u>0</u>
<u>LISOY 15-TAU</u>	<u>84</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>15</u>	<u>0</u>
<u>MESoy 15-TAU</u>	<u>42</u>	<u>42</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>1</u>	<u>15</u>	<u>0</u>
<u>COLIARG</u>	<u>80,5</u>	<u>0</u>	<u>2</u>	<u>2,5</u>	<u>0</u>	<u>15</u>	<u>0</u>
<u>LIRIG2</u>	<u>84,5</u>	<u>0</u>	<u>2</u>	<u>2,5</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>10</u>

+, Arg: L-Arginina;. * TAU: mezcla de Betaína, Alanina, Taurina, Creatina, Glicina y E-471, en cantidades iguales.

Se realiza un análisis de composición elemental, NNP, TVB y colesterol. Los ensayos de engorde con pulpo son realizados por el IFAPA.

c.2) Ensayos de digestibilidad *in vitro* de cebos elaborados con hidrocoloides proteicos.

A partir de una masa de pescado picado monoespecífica (lirio entero) se añaden componentes considerados esenciales en el crecimiento y desarrollo del pulpo, así como hidrocoloides de naturaleza proteica (Tabla XVIII).

Se realizan diferentes ensayos empleando el músculo de cefalópodo (pota, *Toradopsis eblanae*) como ligante. Se elaboran mezclas empleando lirio entero y pota eviscerada (mantos, alas, tentáculos), procedentes de excedentes de la industria extractora y de deshechos de la

industria transformadora. Se añade pota en porcentajes entre el 0 y 50%. Las muestras tras el picado (desarrollado anteriormente) y mezclado con una amasadora de 2 l, se les da forma esférica manualmente y se deja reposar en nevera 4°C, durante 24 horas.

Con la proporción lirio:pota seleccionada, se elaboran distintos cebos añadiendo diferentes ingredientes (ligantes en frío y nutrientes) como se muestra en la Tabla XIX. Un lote se constituye a partir de lirio previamente picado y secado a 100°C durante 24 horas (harina de lirio), cuyo polvo se obtiene de un micromolinillo de aspas Culatti, a través de un filtro con poro de 500 micras; este polvo se mezcla con músculo de pota picado hasta obtener una masa cohesiva y poco adherente (lote 09-LP10).

Tabla XVIII. Composición (%) de materias primas y otros ingredientes en la formulación de cebos basados en la cohesión con ligantes proteicos.

Lote	Hidrocoloide proteico	L-Arginina	Colesterol
A	0	0	0
B	15 prot. soja	0	0
C	10 gelatina polvo	0	0
D	20 gelatina polvo	0	0
E	10 gelatina polvo	2,5	2
F	10 gelatina caliente	0	0
G	10 gelatina caliente	2,5	2
H	15 prot. soja	2,5	2

Se envían para pruebas de digestibilidad *in vitro*, un lote elaborado con lirio seco/harina (09-LD100), mejillón fresco (09-ME), proteína de soja en polvo (09-PS) y carragenato de Kappa en polvo (09-CK).

Se realiza un análisis de composición elemental, NNP, TVB y colesterol de los lotes.

Tabla XIX. Incorporación (%) de diferentes gelificantes proteicos y nutrientes esenciales a una pasta base de pescado lirio:pota.

Lote*	Prot. soja	Gelatina	Arginina	Colesterol
09-A0	0	0	0	0
09-A1	0	0	0	1
09-A2	0	0	0	2
09-A3	0	0	1	0
09-A4	0	0	2	0
09-A5	0	0	1	1
09-A6	0	0	2	2
09-A7	0	10	0	0
09-A8	5	0	0	0
09-LP10	0	0	0	0

Muestras elaboradas a base de lirio:pota (90:10) salvo 09-LP10 (lirio seco: pota fresca... 57,51:42,49).

En este caso, se realiza un análisis de composición elemental, NNP, TVB y colesterol de los lotes, mientras que el IFAPA "Agua del Pino" evalúa la digestibilidad *in vitro*.

c.3) Características reológicas de cebos elaborados con hidrocoloides proteicos en frío.

A partir de una pasta base de pescado de lirio:pota (90:10), se añaden otros ligantes de uso en frío para reforzar la textura de los cebos (Tabla XX).

Tras todos los ensayos llevados a cabo en la tabla anterior, se realizan nuevos ensayos con la misma pasta base pero empleando bajas tasas de proteína de soja (PS) y aplicando secado a vacío en lotes con 0% de PS (Tabla XXI).

Se realiza un perfil de textura con deformación del 10%, 20% y 50% (velocidad 5 mm/seg, fuerza de 5 g, tiempo de ensayo 5 seg.).

Tabla XX. Composición (%) de materias primas de lotes desarrollados con mezcla de pescado lirio y pota, y diferentes ligantes en frío para Análisis de Perfil de Textura (TPA).

	Lirio fresco	Pota fresca	Prot. soja	Gelatina	Alginato (algCa)*	Colesterol +
XA01	90	10	0	0	0	
XA02	90	0	10	0	0	
XA03	85	0	15	0	0	
XA04	90	0	0	10	0	
XA05	90	10	0	0	0	2%
XA06	85	0	15	0	0	2%
XA07	70	0	0	0	30	
XA08	100	0	0	0	0	
XA09	0	100	0	0	0	

+, tasa de adición sobre la masa final.* algCa: disolución acuosa conteniendo 1,89% de alginato sódico y 0,3 % de sulfato de calcio 2-hidrato respecto a la masa final, similar al producto comercial Pokel Merl.

Tabla XXI. Adición de PS a pasta base de lirio:pota (90:10), y condiciones de secado.

Muestra	Condiciones de secado	PS (%)
Soja0	-	0
Soja0dry	12 h, 25°C, vacío	0
Soja0dry2	24 h vacío (12 h 25° y 12 h 30°C)	0
Soja2	-	2
Soja5	-	5

También se realizan pruebas de resistencia en medio acuoso con flujo de agua activo, introduciendo un cilindro de pasta de 39x37 mm en cristalizadores de 1000 ml, y sometidos a la acción de la fuerza del agua gracias a un agitador magnético (velocidad 2000 rpm), observando la apariencia a los 30 min, 3 y 6 horas. Posteriormente se retiran a las 7 horas, se deja escurrir 5 min sobre una rejilla de plástico de 2 mm de luz de malla y se procede a evaluar su textura mediante la presión por tacto.

Se realizan 5 kg de cebos de los lotes denominados Soja0, Soja2 y Soja5. Se envasan a vacío en láminas de un grosor de 4 cm y posterior congelación a -24 h. Estos lotes se envían para

pruebas de engorde por el IFAPA “Agua del Pino” (Huelva) y por el departamento de Desarrollo de Negocio Acuicultura del IRTA (Tarragona).

d) Ensayos de Digestibilidad y Engorde.

Los ensayos de digestibilidad *in vitro* son realizadas por el grupo de investigación del IFAPA “Agua del Pino” de Huelva.

Las pruebas de aceptabilidad y engorde de parte de los cebos desarrollados son realizadas por el grupo de investigación del IFAPA “Agua del Pino” de Huelva y por el departamento de Desarrollo de Negocio Acuicultura del IRTA de Tarragona.

e) Análisis estadístico. Ver apartado 3.4.1. (material y métodos).

RESULTADOS Y DISCUSION.

Para conseguir un cebo artificial tipo “fiambre”, los mejores resultados se han conseguido con proteína de soja al 10-12% (**cebo08S-10**). Para conseguir una correcta cohesión de las partículas de pasta de pescado, la homogeneización se realiza a mano con 500 g de pescado y los aditivos, para finalizar con una homogeneización de 10 min con una mezcladora de masas a mayor velocidad (300 rpm). La masa obtenida se deja reposar 24 horas en cámara fría (4°C), tras este periodo una parte de la masa se utiliza para pruebas de textura y de hidratación y estabilidad en agua marina (3,5% ClNa en agua). La masa restante se envasa a vacío y se congela a -24°C, para posteriores estudios de mantenimiento de cualidades de textura.

Los ensayos realizados con 10 % Gelatina PANREAC 80-100 ° Bloom, al igual que lo descrito por Quintana et al. (2008), no presenta un cebo cohesionado como ellos describen, y tras su inmersión en agua durante 7 horas, la estructura se desmorona parcialmente, con una textura débil: frágil, blanda y quebradiza, desapareciendo totalmente al cabo de 24 horas (**cebo08G-10**).

En cuanto al empleo de alginato de sodio, para una correcta gelificación en frío es preciso emplear una sal de calcio. Tras diversas pruebas, la proporción adecuada para conseguir una estructura similar a la obtenida con proteína de soja, es utilizar en torno a un 10% de alginato junto con 2% de tripolifosfato y 8% de sulfato de calcio. El problema en este caso es disolver previamente el aditivo en agua de tal forma que casi representa esta solución un 30% respecto a la masa total. Hemos realizado ensayo con el fin de reducir esta agua al máximo posible, pero para conseguir idénticos resultados en la textura hemos reducido el agua de 1/3 aproximadamente de los ensayos iniciales hasta 1/5 parte de la masa total, pero siendo necesario aumentar hasta modificar las cantidades iniciales de aditivos: 4% alginato sodio, 0,8% tripolifosfato, 10% de sulfato cálcico y 1,6% de dextrosa. A pesar de ello, este cebo incorpora un 20% de agua a mayores de la que le correspondería a las materias primas empleadas como cebo natural (**cebo08A-4**).

El aspecto de los cebos seleccionados, elaborados con Alginato en solución 30%, Gelatina al 10% y Proteína de Soja al 15%, sumergidos en agua marina, al cabo de 7 horas y de 24 horas se describe a continuación. Durante las primeras 7 horas, la muestra de proteína de soja aumenta su peso en 19,9%, la de gelatina 10,7% y la de alginato 22,3%. El bajo incremento de la muestra de gelatina es debido a una solubilización en parte de la misma y pérdida de masa de la estructura

inicial. Al cabo de 24 horas, las dos muestras que se mantienen íntegras, muestran un incremento en peso final de 24,1% (proteína de soja) y de un 29,4 % para la muestra de alginato. El cebo con gelatina se solubiliza en el agua y la estructura del cebo se desmorona.

En la tabla XXII se muestran los resultados de la composición nutricional bruta de los lotes de cebos desarrollados a base de mezclas de pasta de lirio y mejillón con proteína de soja (PS) como ligante, comparándolos con el lote de lirio entero empleado como control (pescado íntegro descongelado). Hay un lote que no se indica y desarrollado a petición del grupo del IFAPA y fue incorporar un 10% de gelatina 80° bloom a una masa picada de lirio, todo ello en frío, de acuerdo con los trabajos llevados a cabo por Quintana *et al.* (2008) con calamar. Aunque su apariencia al cabo de 24 horas a 4°C era aceptable al tacto, al poco de incorporar al agua se disgregaba.

La incorporación de PS aumenta la tasa proteica como es lógico, en detrimento del resto de nutrientes, sin mostrar diferencias significativas entre los lotes salvo en el caso del lote control (menor tasa proteica, 15,80%) y el lote COLIARG (mayor tasa proteica, 29,14%). La tasa de lípidos desciende en los lotes de pasta realizados exclusivamente con lirio debido a la dilución por la incorporación de PS al igual que el resto de parámetros evaluados. Sin embargo, la tasa de lípidos se incrementa en los lotes de pasta lirio más mejillón, con diferencias significativas entre Mesoy 15-0 y Mesoy 15-TAU, que explicamos por la heterogeneidad de los lotes de mejillón facilitados. Sólo en el caso del lote COLIARG, el incremento viene explicado por la incorporación de colesterol. Las cenizas se mantienen en un nivel similar entre los diferentes lotes. Por otro lado, el NNP se incrementa en los lotes LISOY 15-TAU y MESOY 15-TAU por la incorporación de las sustancias atrayentes, de carácter nitrogenado la mayoría, hecho que se repite en el lote COLIARG más la tasa de L-arginina añadida, de ahí que sea el lote con mayor tasa de NNP.

Tabla XXII. Composición elemental (%) y fracción nitrogenada no proteica de los cebos elaborados con PS y la materia prima empleada, durante 2009.

Lote	Proteína	Lípidos	Humedad	Cenizas	NNP	TVB*
Bacaladilla o Lirio (control)	15,80	1,64	78,61	3,35	0,38	39,41
Pota (<i>Todaropsis eblanae</i>)	11,22	0,83	86,27	1,16	0,30	10,05
LISOY 15-0	24,28	1,24	68,98	3,70	0,31	38,39
MESoy 15-0	25,94	1,79	65,68	3,18	0,30	31,23
LISOY 15-TAU	27,04	1,32	64,86	3,58	0,61	59,15
MESoy 15-TAU	25,09	2,30	65,90	3,25	0,47	23,57
COLIARG	29,14	3,68	63,51	3,13	0,95	30,39
Proteína soja (PS)	78,75	nd**	nd	nd	nd	nd
Concentrado PS	62,13	nd	nd	nd	nd	nd

*, TVB, expresado como mg N TVB/100g.; **, nd: no determinado.

Sin embargo, la tasa proteica en los lotes con adición de PS no es la esperada respecto a la materia prima empleada, supone en el caso de los lotes LISOY un incremento en torno al 10% y no del 15%. Por ello, se realizó un análisis de proteína de PS y Concentrado de PS, obteniendo un valor del 79% y 62% respectivamente, lo cual justifica los datos obtenidos.

Desde un punto de vista nutricional, la composición bruta indica que estos cebos podrían ser un sustituto nutricional adecuado o equilibrado respecto a las materias primas naturales.

Los cebos con Proteína de soja al 15% empleando como materias primas Lirio 100% y mezcla Lirio:mejillón (50:50); se envían al grupo de investigación de Canarias e IFAPA de Huelva para el estudio de aceptabilidad y engorde de los pulpos en cautividad, añadiendo sustancias atrayentes y/o enriquecedoras, para facilitar o incitar el consumo de los cebos; experiencia que aún no se ha llevado a cabo en el caso de Canarias. Las experiencias de engorde llevadas a cabo por el equipo de IFAPA de Huelva no muestran crecimiento o engorde (Figura 8).

En el caso de los lotes que emplean mezcla de lirio y mejillón (MESOY 15-0 y MESOY 15-TAU), la tendencia a la pérdida de peso en el tiempo es más acusada que en el caso de los lotes que sólo contemplan Lirio (LISOY 15-0 y COLIARG) en su composición. La presencia de sustancias atrayentes empleadas (LISOY 15-TAU y MESOY 15-TAU) no tiene efecto en el desarrollo del animal. Aunque hay una ligera pérdida de peso en el lote LISOY 15-0 y COLIARG, ésta no es significativa, por lo que se puede hablar de un establecimiento en el peso.

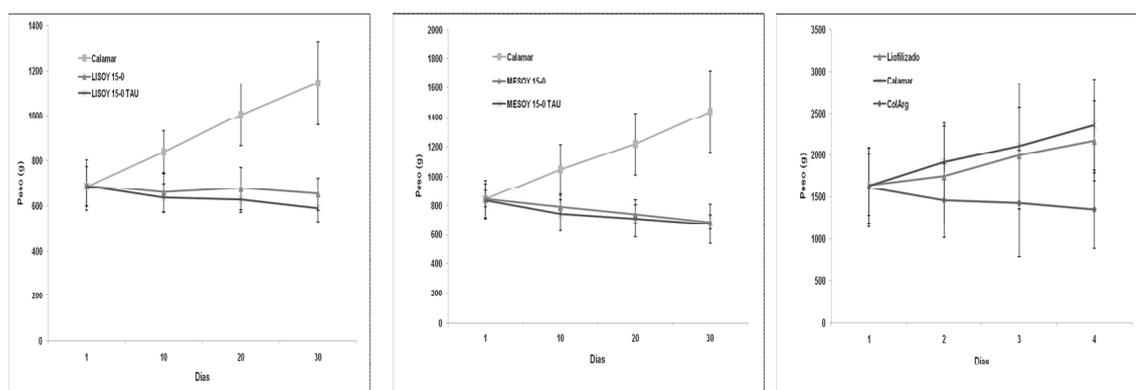


Figura 8. Crecimiento en peso (g) de juveniles de pulpo alimentados con distintas dietas artificiales aglutinadas con proteína de soja a base de bacaladilla cruda (izquierda), mezclada con 50% mejillón cocido (centro), con o sin atrayentes, y bacaladilla cruda enriquecida con arginina y colesterol (derecha). Gráficos desarrollados por el equipo del IGFA “Agua del Pino”.

Estos datos, lleva a replantear el trabajo de tal forma que antes de desarrollar nuevos cebos, se realizan pruebas de digestibilidad *in vitro*, desarrollando el equipo de la USC las formulaciones y el equipo del IFAPA las experiencias *in vitro*. En la tabla XXIII se indican los resultados de proteína y humedad, necesarios para el cálculo de digestibilidad, así como el de colesterol, donde el lote A representa el control (lirio entero descongelado).

Tabla XXIII. Contenido en agua (%), proteína (%) y colesterol (mg/g) de cebos de lirio con diferentes hidrocoloides proteicos, y adición de arginina y colesterol.

Lote	proteína	humedad	Colesterol
A	18,38	71,64	0,51
B	23,81	63,85	0,37
C	21,24	67,55	0,43
D	27,56	61,97	0,31
E	27,13	63,75	0,49
F	27,18	64,24	0,40
G	31,09	62,03	0,54
H	29,53	61,03	0,55

La mayor tasa proteica se da en los lotes G y H debido a la incorporación de los hidrocoloides más el aminoácido arginina. Por otro lado, la adición de los hidrocoloides reduce significativamente la tasa de colesterol respecto a la materia prima (0,51 mg/g), pero se ve compensada por la incorporación del 2% de colesterol (lotes E, G y H), lo cual los equipara a la materia prima original.

La gráfica de digestibilidad desarrollada por el equipo del IFAPA (figura 9), muestra que los mejores resultados se obtienen con las materias primas, más alto en el caso de calamar liofilizado seguido por el mejillón cocido, y similar en el caso del lirio (lote A) y el calamar. Sin embargo, cuando se incorporan ligantes proteicos, los mejores resultados y similares a las materias primas se obtienen cuando se incorpora gelatina en frío (36% y 45% en lotes que incorporan gelatina al 10 y 20%, respectivamente). Sin embargo, cuando se incorporan estas mismas tasas de gelatina en caliente, la digestibilidad se reduce alcanzando a lo sumo la mitad de los lotes que emplean la gelatina en frío, y finalmente en el lote con 15% de PS, su tasa de digestibilidad es de un tercio respecto a los mejores resultados obtenidos.

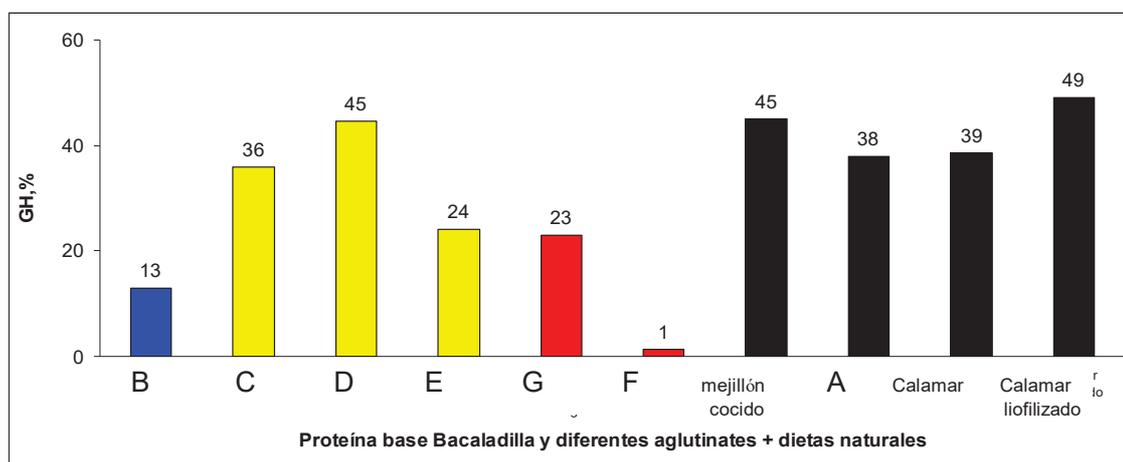


Figura 9. Digestibilidad de materias primas y respectivos cebos elaborados con distintos hidrocoloides proteicos.

Las experiencias de engorde llevadas a cabo en el año 2009 con proteína de soja (PS) ofrecen unos cebos óptimos físicamente para el pulpo, ya que parece aceptar bien la textura

presentada; aunque los resultados de peso no son aceptables, si los comparamos con otros hidrocoloides de carácter glucídico (López *et al.*, 2008) los resultados son mejores al no presentar unas pérdidas de peso tan acusadas, lo cual abre las puertas a seguir trabajando con este ligante, si bien, la digestibilidad *in vitro* de la PS es baja (13%), pensamos que el problema en el nulo engorde radique en el alta tasa de PS incorporada en las primeras pruebas (10-15%).

Por otro lado, la incorporación de mejillón cocido disminuye el engorde comparando con cebos que no emplean materias primas cocidas, sin embargo, su digestibilidad es la más elevada (45%) con respecto a las materias primas frescas lo cual indicaría que sería una buena materia prima para el pulpo, pero también pone de manifiesto que deben de tratarse con prudencia los resultados parciales obtenidos únicamente con determinadas técnicas, ya que como hemos visto en casos anteriores, la presencia de mejillón cocido en determinadas dietas artificiales ha dado lugar a peores resultados de engorde comparado con dietas que sólo emplean bacaladilla fresca. Al igual que los estudios llevados a cabo con hidrocoloides glucídicos con ensilados y pastas de pescado, el empleo de calor para una correcta gelificación y/o acompañado de una cocción parcial de la materia prima, merma el rendimiento del pulpo en estudios de engorde, como ha observado Domíngues *et al.* (2009) con *Sepia officinalis*, pese a la riqueza en colesterol, ácidos grasos y minerales de estos residuos. Si bien en humanos, la cocción o el empleo de ligantes glucídicos con calor mejoran las propiedades sensoriales del alimento reestructurado (Gao *et al.*, 1999) no por ello implica una mejor absorción de los nutrientes, impidiendo la absorción de componentes esenciales, especialmente colesterol (Seal y Mathers, 2001; Soh *et al.*, 2003; Lazaridou y Biliaderis, 2007, Nagata y Yamada, 2009), minerales (Ohta *et al.*, 1997) o vinculados a fenómenos de carcinogénesis a largo plazo (Tobacman *et al.*, 2001; Cohen e Ito, 2002; Bhattacharyya *et al.*, 2007), y esta situación puede ser reproducida en los cefalópodos. Tampoco el empleo de dietas o cebos de baja humedad mejora el crecimiento de los animales, aunque no pierdan peso (Domíngues *et al.*, 2007; Domíngues *et al.*, 2008), por lo que algunos proponen usar cebos húmedos ante los pellets o dietas semihúmedas.

El fracaso con el lote a base de gelatina y pescado blanco en esta experiencia de engorde, que contradicen los resultados indicados por Quintana *et al.* (2008) indica que la respuesta a la textura o aspecto del cebo radica en la composición del calamar y no tanto en la gelatina. Se realizaron varios ensayos con mezclas de material picado fresco de Lirio y pota hasta el 50% de ésta última. En la tabla XXIV se muestran los datos o impresiones recogidas durante el proceso de elaboración y su comportamiento a diversos tratamientos.

Estos datos sugieren emplear una base 90:10 (lirio:pota) para próximos ensayos. Se repite una nueva experiencia para evaluar la digestibilidad de nuevos cebos, desarrollados a partir de una mezcla base de lirio:pota (90:10) salvo el lote 09-LP10, cuya composición se muestra en la figura 10.

Como es lógico, el perfil nutricional más idóneo en principio lo representa el lote 09-LP10. El resto de dietas o cebos, con una humedad similar al pescado fresco (lote 09-A0) salvo los lotes 09-A7 y 09-A8 que es inferior al 70% por la incorporación de un 10% y 5% de gelatina en frío y PS, respectivamente, lo cual incrementa la tasa proteica. El resto de lotes responde a los distintos incrementos de proteína o lípidos en base a la adición de L-arginina (lotes 09- A3 a A6) o colesterol (lotes 09-A1, A2, A5 y A6).

Tabla XXIV. Aspecto de pasta de pescado elaborado a partir de lirio entero picado con diversas tasas de pota (músculo picado).

Tasa de Pota (%)	0	10	20	30	50
Moldeado manual	Optimo	Optimo. Lig. pegajoso	Pegajoso.	Muy pegajoso, difícil moldear	Pegajoso, difícil moldear
Aspecto tras 24 h 4°C	Compacto	Compacto, lig. pegajoso	Blando, pegajoso	Muy blando pegajoso.	Muy blando y pegajoso.
Desgranado manual	Fácil	Lig. fácil	Complicado	Difícil	Difícil
Aspecto en agua 2 horas	Malo	Aceptable	Optimo	Bueno	Bueno

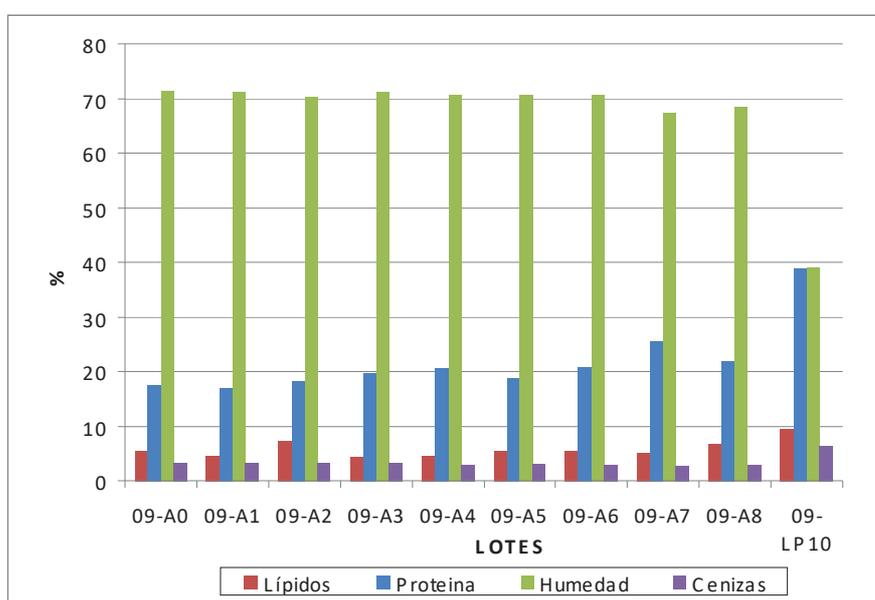


Figura 10. Composición (%) de los cebos elaborados a partir de una lirio y pota (90:10), distintos hidrocoloides y compuestos esenciales (arginina y colesterol).

En la figura 11 se muestran los valores de NNP y TVB, expresado en porcentaje. El mayor incremento de NNP (péptidos, aminas, aminoácidos libres, purinas, ...) se da en aquellos lotes a los que se les ha incorporado mayor tasa de L-arginina y en el lote 09-LP10.

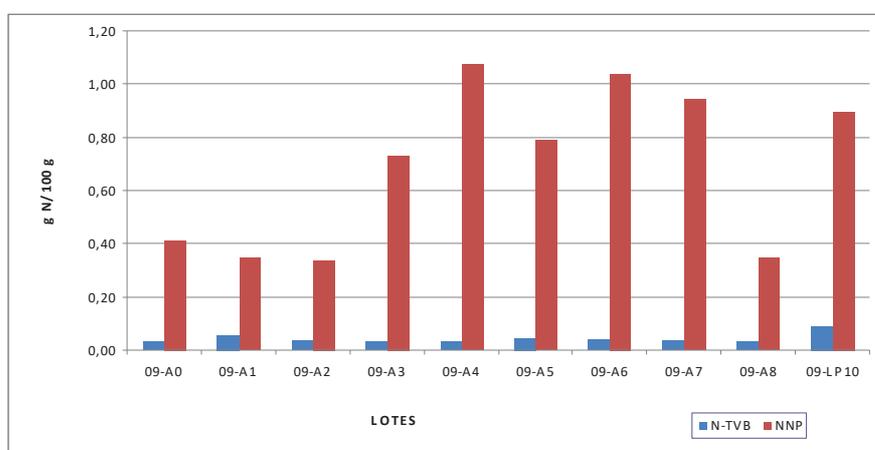


Figura 11. Fracción nitrogenada no proteica (%) de los cebos elaborados a partir de una lirio y pota (90:10), distintos hidrocoloides y compuestos esenciales (arginina y colesterol).

En el caso de TVB (aminas volátiles: TMA; NH₃) la mayor tasa se da en el lote elaborado a base de lirio seco. Las aminas volátiles, cuyos valores se indican en la tabla XXV, muestran que las aminas principales generadas son la Agmatina (AGM), con valores entre las 100 y 300 ppm, seguida por la Cadaverina (CAD, entre 30 y 100 ppm) y la Tiramina (TYR).

Tabla XXV. Formación de aminas biógenas (µg amina/g) durante la elaboración de cebos artificiales de pasta lirio:pota (90:10).

	PUT	TYR	CAD	HIS	AGM	PHE	SPD	TRI	SPA
Lirio	4,78	7,98	21,95	0,15	88,01	1,23	2,43	0,37	5,84
09-A0	6,28	22,40	62,42	0,14	176,75	1,40	5,54	1,35	2,84
09-A1	8,09	26,73	42,95	0,07	204,10	1,22	4,62	0,73	1,43
09-A2	6,28	22,02	32,66	0,24	119,07	1,29	4,57	0,66	0,56
09-A3	9,76	2,88	47,74	0,08	150,86	1,87	6,48	5,10	1,21
09-A4	16,00	1,49	39,40	0,66	104,13	1,05	6,68	4,51	1,81
09-A5	10,22	6,84	56,56	0,31	289,06	1,76	5,85	5,33	0,57
09-A6	13,69	1,97	38,17	0,75	109,17	0,92	6,08	2,48	3,72
09-A7	5,65	10,29	23,71	0,19	95,28	0,92	3,45	nc*	nc
09-A8	7,35	20,10	37,95	0,19	156,83	1,70	5,41	0,91	4,53
09-LP10	11,20	24,95	99,11	0,11	286,28	2,14	6,22	1,63	5,31

*nc, no cuantificado. PUT: putrescina, TYR: tiramina; CAD: cadaverina, HIS: histamina, AGM: agmatina, PHE: β-feniletilamina, SPD: espermidina, TRI: triptamina, SPA: espermina.

La generación de estas aminas es vía bacteriana (Ozogul y Ozogul, 2007; Ozyurt *et al.*, 2009), salvo la Putrescina (PUT), Espermidina (SPD) y Espermina (SPA) que ya se presenta en el pescado *in vivo* (Rodríguez *et al.*, 1999); estas aminas se aportan principalmente por el lirio que durante el periodo empleado para la cohesión de las proteínas (24 horas, 4°C) las bacterias

psicrófilas siguen generando significativamente más aminas, principalmente Cadaverina, Tiramina, Agmatina, Espermidina y Triptamina (TRI) tal y como ocurre en pescado refrigerado en estudios de consumo humano (Mohan *et al.* 2009; Ozogul *et al.*, 2009). Si bien no se observan diferencias significativas para cada amina entre los diferentes lotes, existe el caso curioso de la Tiramina, donde los lotes 09-A3, A4, A5 y A6 (a los que se les ha incorporado L-arginina) muestran una pérdida significativa respecto a la materia prima y con valores más bajos significativamente respecto a los demás lotes, que por otro lado presentan además una tasa ligeramente superior de Putrescina y de Histamina (HIS), este último incremento no significativo. Sólo la Espermina (SPA) muestra un descenso significativo en todos los lotes con respecto a la materia prima salvo el lote 09-A8 y el lote 09-LP10. En este último caso, donde la materia orgánica ha sido concentrada y el escaso grado de humedad lo aporta la pota, el mantener una misma tasa con respecto a la materia prima indica una gran pérdida de esta amina, quizás debido al proceso de secado del lirio.

Las pruebas de Digestibilidad de estos lotes son realizados por el grupo de IFAPA (Huelva), de cuyos datos aún estamos pendientes.

A continuación, se desarrollan nuevos lotes de cebos para evaluar la textura que ofrecen los diferentes ligantes proteicos en frío. No se comentan con profusión los resultados para deformaciones aplicadas del 10 y 20% al no ser concluyentes. Los datos correspondientes a los parámetros típicos del Análisis del Perfil de Textura (TPA) aplicando un 10% de deformación se muestran en la tabla XXVI, donde se comparan con los parámetros de textura correspondientes a las respectivas materias primas íntegras (Bacaladilla y Pota enteras).

En este caso, el estudio de estos parámetros nos puede dar una idea del comportamiento de estos alimentos al ser masticados por el pulpo, comparando básicamente con el TPA de lirio entero descongelado (lote XA08) y la pota eviscerada descongelada (lote XA09), alimentos que sabemos son aceptados por el pulpo. En todos los casos, la pasta común es a base de Lirio a la que se añade pota, PS, Gelatina y Alginato para observar los cambios de las variables estudiadas. El lote elaborado con Alginato (XA07) también sirve como referencia de alimento reestructurado pues según las informaciones aportadas por el equipo de investigación del IMIDA (Cerezo, 2009, comunicación personal), hasta el momento es el que favorece un crecimiento en el pulpo.

En la figura 12, se muestran los resultados con el 50% de deformación aplicada de los parámetros relacionados con la Dureza, Fractura, Gomosidad y Masticabilidad, en la figura 13 con la Adherencia, en la figura 14 la elasticidad y cohesividad, típicos ensayos en análisis sensoriales de alimentos para humanos. Estos datos muestran que la dureza de los cebos se incrementa con el empleo de ligantes, correspondiendo a los cebos que adicionan PS entre 5 y 15% los reestructurados más fuertes, que más energía requieren para disgregar la masa de proteína, y que se refleja por la fractura. Los demás lotes no presentan fractura, de hecho, bajo la tasa de deformación aplicada (50%), la estructura de los cebos se modifica y desgarran pero con cierta adherencia entre la masa, lo cual impide la manifestación de la fractura. La excepción la representa el lote referencia de alginato (XA07), que recupera la forma bajo estas condiciones de ensayo. No se observan diferencias en base a la adición de colesterol en los lotes que emplean 15% de PS (XA03 y XA06, este último con colesterol) en todos los parámetros evaluados a excepción de la adherencia, que es significativamente más elevada en el lote XA06.

Tabla XXVI. Análisis de Perfil de Textura (TPA); 10% deformación, de cebos elaborados a base de lirio con diferentes ingredientes e hidrocoloides.

	Dureza	Adherencia	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Masticabilidad	Resilience
XA01	255,65 ±35,74	-7,39 ±2,75	0,95 ±0,08	0,81 ±0,01	206,12 ±30,83	196,30 ±46,83	0,48 ±0,01
XA02	1441,82 ±50,06	-0,41 ±0,48	1,01 ±0,01	0,90 ±0,00	1296,18 ±48,73	1312,86 ±61,10	0,62 ±0,02
XA03	2331,84 ±29,14	0,00	1,06 ±0,04	0,92 ±0,00	2140,39 ±38,11	2257,14 ±52,03	0,65 ±0,02
XA04	1624,94 ±608,66	-1,60	0,90 ±0,06	0,89 ±0,01	1443,03 ±527,50	1314,92 ±565,11	0,66 ±0,02
XA05	407,10 ±44,12	-26,61 ±1,37	0,96 ±0,04	0,82 ±0,03	334,38 ±9,27	330,06 ±15,14	0,49 ±0,01
XA06	2209,89 ±28,17	-0,14 0,00±	1,00 ±0,00	0,91 ±0,01	2011,84 ±43,48	2017,88 ±34,94	0,64 ±0,03
XA07	183,56 ±20,91	-8,22 ±1,97	0,92 ±0,01	0,82 ±0,02	150,19 ±13,78	138,24 ±14,82	0,44 ±0,02
XA08	274,46 ±46,18	-5,97 ±3,72	0,96 ±0,07	0,81 ±0,02	222,58 ±38,60	212,16 ±20,61	0,48 ±0,02
XA09	105,74 ±65,75	-65,58 ±45,61	0,88 ±0,05	0,98 ±0,09	104,63 ±66,59	89,17 ±50,98	0,47 ±0,07

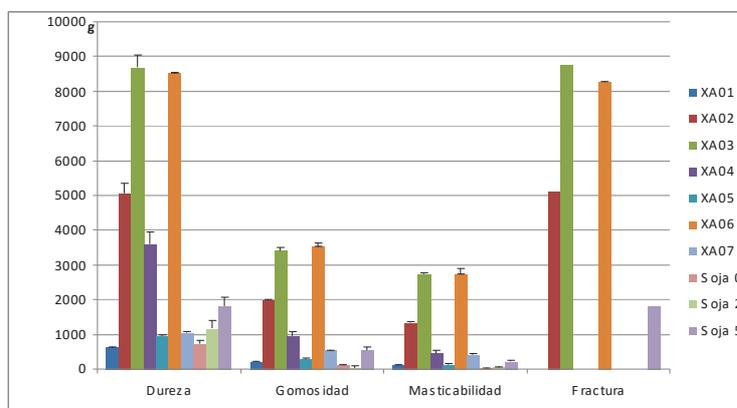


Fig. 12. Dureza, gomosidad, masticabilidad y fractura (expresado en g) de cebos de lirio elaborados con diferentes hidrocoloides en frío.

Respecto a la adherencia (o adhesividad), ésta es mayor en el lote que usa alginato (XA07), seguidos en importancia por los lotes que emplean 10% pota como ligante: XA01 y XA05 (con colesterol). Sin embargo, el lote SOJA0, cuya composición es similar a XA01, no muestra valores similares, pero debemos indicar que la bacaladilla empleada es la misma en ambos casos, y la pota empleada pertenece a capturas de barcos diferentes, y algunos de éstos emplean aditivos o auxiliares alimentarios sin declarar con el fin de incrementar el peso, lo cual influye en las características reológicas de la materia prima, tal y como se aprecia en la mencionada gráfica.

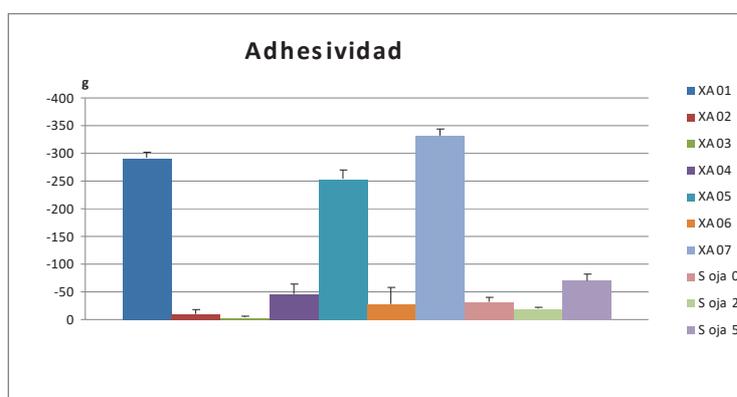


Fig. 13. Adherencia de cebos elaborados a base de lirio con diferentes hidrocoloides en frío.

Con el fin de buscar un ligante proteico que supla al alginato y con la misma efectividad sobre el crecimiento del pulpo, los lotes que emplean 10% de proteína de pota (XA01) son los más cercanos a las características reológicas en general del lote XA07, y si además añadimos colesterol (XA06) se afina más en estas características (más elasticidad y cohesividad). Precisamente con respecto a la cohesividad el lote de alginato representa el máximo valor, y solo comparable en elasticidad al empleo de proteína de soja en elevadas concentraciones.

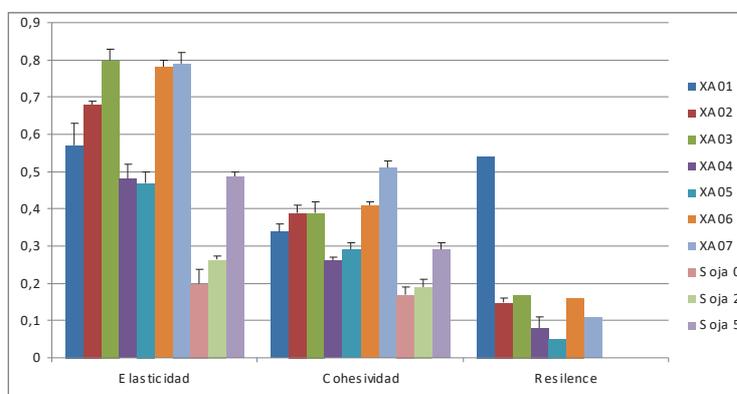


Fig. 14. Elasticidad, cohesividad y resilencia de cebos elaborados a base de lirio con diferentes hidrocoloides en frío.

En general, los reestructurados a base de pota presentan mayor adherencia con respecto a los lotes restantes. La incorporación de PS y Gelatina también incrementan la elasticidad, dureza y cohesividad de los cebos, que los hace más gomosos. La incorporación de un 2% de colesterol a la pasta base da lugar a unos reestructurados aparentemente más blandos al tacto (no manifestado por el TPA) e incrementa la adherencia, reduciendo la masticabilidad en el caso de aportar también un 15% de PS.

Se concluye que una mezcla de pasta base lirio:pota (90:10) podría sustituir al referente que emplea alginato, que aporta más agua y carbohidratos, y que además podría reforzarse ligeramente en textura (más duro y cohesivo) empleando pequeñas tasas de proteína de soja, entre 2 y 5%.

El lote Soja0dry, del que no se muestran datos de las pruebas de TPA, presenta una superficie seca, la cual reduce su adherencia (es 0,00), pero se muestra blanda (lote con menor dureza) debido a una masa interior húmeda, pues la corteza o parte exterior seca hace de barrera y no favorece la pérdida de agua interna del molde de forma adecuada, de ahí también una menor valor de los resultados de los restantes parámetros evaluados.

Moldes de estos lotes (serie SOJA) con pasta base común (lirio:pota 90:10) se sumergen en agua salada con agitación y se observa su comportamiento (Tabla XXVII). Los lotes que se sometieron a una fase de secado a vacío son descartados, por un lado por las características de textura obtenidas en TPA y por su flotabilidad. Los 3 lotes restantes son aceptados, si bien el aspecto tras 6 horas de inmersión mejora con el incremento de PS; cuando esta tasa es 0, el molde es más blando y más fácilmente desmenuzable, pero soporta bastante bien su integridad (aspecto) en el agua tras 6 horas, al contrario de lo que ocurría con la incorporación de gelatina en frío.

Estos resultados (físicos y nutricionales) indican unas buenas cualidades de la masa de pasta base 90:10 de lirio:pota, cuyas características de textura mejoran con la adición de bajas tasas de proteína de soja. Se elaboran 10 kg de los lotes Soja0, Soja2 y Soja5, que se envasan a vacío y se congelan para posteriores estudios de engorde.

Usando hidrocoloides de naturaleza glucídica en frío, alginato sódico, Cerezo *et al.* (2008) han obtenido mejores resultados en el crecimiento del pulpo que con gelatina, al contrario que Rosas *et al.* (2008), que sugiere la falta de un sistema enzimático para disgregar el alginato y mejorar así su eficiencia digestiva. Pero conseguir una textura adecuada usando alginato implica usar hasta un 30% de agua, lo cual diluye los nutrientes para una misma ingesta respecto a otros tipos de cebos. En cualquier caso, la tasa de crecimiento con estos cebos o dietas son muy inferiores a los conseguidos con alimentos naturales.

Es evidente que a pesar de los estudios optimistas llevados a cabo con gelatina y calamar por Quintana *et al.* (2008), no son comparables a su uso en frío con pescado blanco, a pesar de los excelentes resultados de digestibilidad, similares a las materias primas base de su alimentación, pero al introducir el cebo en el agua su desmoronamiento estructural es inmediato al hidratarse con el agua. Los cebos donde se aplica gelatina caliente para conseguir un reestructurado óptimo, por el contrario disminuyen su digestibilidad. En este sentido Cerezo *et al.* (2008) tampoco han obtenido resultados óptimos con gelatina, aunque Rosas *et al.* (2008) recomienda usar entre 5 y 7% de gelatina para alimentar el pulpo, ya que destaca su mejor digestibilidad respecto a otros ligantes. En el presente trabajo, también observamos una digestibilidad *in vitro* alta de la gelatina empleada como ligante, de origen porcino y 80° bloom, y aunque la textura del cebo es óptima en mano, al introducir en agua de desestructura con algo más de tiempo en caliente respecto a su elaboración en frío, con lo cual es evidente que precisaría un ligante de refuerzo para aumentar su integridad durante el tiempo de inmersión.

Pero al mismo tiempo, el estudio de Quintana *et al.* (2008) añade un dato importante y es el uso de cefalópodos decápodos como ligante o estabilizante natural aunque en su trabajo lo emplea como base natural del alimento del pulpo. En este sentido hay pocos estudios científicos (Miliou *et al.* 2005; Rosas *et al.*, 2007), destacando la relación inversa de la temperatura y el tamaño de los

pulpos para mejorar la eficiencia alimenticia a base de calamar. El empleo de un 10% de pota mejora la textura y estructura del cebo a base de pescado blanco cuando se sumerge en agua, a pesar de su mayor adherencia, una cualidad sensorial en principio negativa, sin embargo, no es descartable el empleo de la proteína de soja (PS), pese a tener una baja digestibilidad. El empleo de tasas menores de PS con respecto a las empleadas en los primeros ensayos de engorde (15%), en torno a un 2%, mantiene unas características de textura de los cebos óptimas similares a las que emplean gelatina al 10%, alginato al 1,8 % o al propio pescado sin procesar. Además, mejora o mantiene la integridad sus cualidades sensoriales respecto a la inmersión en agua. Como comentamos anteriormente otros hidrocoloides poseen efectos negativos relacionados con la captura de minerales como el calcio, impidiendo su absorción por el pulpo, la PS no presenta este problema al menos en estudios realizados con humanos (Kenny *et al.*, 2009).

Tabla XXVII. Cualidades físicas de cebos elaborados con pasta base lirio:pota (90:10) y diferentes tasas de proteína de soja.

Muestra	Fracturabilidad (deformación 20 mm-50%)	Humedad (%)	Inmersión en agua (horas)			Desmenuzado manual al cabo de 7 horas
			½	3	6	
Soja0	0	72,44 ±0,21	Agua lig turbia. Cilindro íntegro	Agua lig. turbia. Cilindro con hebras.	Agua lig sucia. Cilindro lig. deformad o	Se deshace con ligera presión
Soja0dry	0	55,77 ±0,84	FLOTA	FLOTA. Agua color ámbar	FLOTA Agua color ámbar	Descartado
Soja0dry2	0	34,95 ±0,72	FLOTA	FLOTA. Agua color ámbar	FLOTA Agua color ámbar	Descartado
Soja2	0	70,88 ±1,05	Agua clara. Cilindro íntegro	Agua lig turbia. Cilindro íntegro	Agua lig. Turbia. Se aprecian hebras en cilindro	Blando, deformable. Pastoso
Soja5	1818,85	69,23 ±0,76	Agua clara Cilindro íntegro	Agua clara Cilindro íntegro	Agua lig. Turbia. Cilindro íntegro	Rompe; desgarra. Óptimo.

Queda pendiente los resultados de engorde a base de cebos elaborados con mezcla de pasta de lirio:pota y tasas bajas de PS, que esperamos finalizar en el presente año, lo cual indicará el éxito o viabilidad de este tipo de dieta experimental.

El soporte estabilizante ideal estimamos ha de ser proteico y que pueda ser procesado en frío, por lo que las opciones son escasas. Esta última década está en auge el empleo de la transglutaminasa microbiana (MTGasa), para ligar las fibras musculares rotas crudas, pero a fecha

actual es una alternativa muy cara para ser empleada incluso en alimentación humana, lo cual reduce su aplicación directa en el desarrollo de cebos artificiales en acuicultura. Aún en ciertos casos, la textura de un alimento empleando MTGasa debe ser reforzada con otro tipo de ligantes para conseguir unas características idóneas a escala humana (Ramírez *et al.*, 2007a, Ramírez *et al.*, 2007b; Min y Green, 2008), que no tiene por que corresponder con la del animal de cultivo.

Es obvia la importancia de conseguir un alimento artificial ideal, con una red estructural que mantenga los nutrientes y que facilite su manipulación y absorción de los nutrientes por parte del pulpo, y he aquí el principal problema en la actualidad. Conseguida esta estructura o soporte ligante, que al menos mantenga una eficiencia nutricional similar al alimento natural (Aguado y García-García, 2003; Socorro *et al.*, 2005), se facilitarán posteriores estudios de incremento del crecimiento por adición de sustancias esenciales, estimulantes o atractantes, si bien, las experiencias realizadas con estos últimos no ha sido satisfactorias en el caso del pulpo, a pesar de su éxito en otras especies (Polat y Beklevik, 1999). Pero se debe contemplar también las características idóneas del alimento desde un punto de vista toxicológico, de tal forma que se evalúe el grado de frescura del pescado a emplear para realizar alimentos artificiales y que no repercuta en la salud del animal como en otros casos (Watanabe *et al.*, 1987; Opstvedt *et al.*, 2000; Tapia-Salazar *et al.*, 2004).

Se sabe que la presencia de determinadas aminas en el organismo favorece o provoca estrés, influye en la regulación cardíaca o neuronal de los cefalópodos (Fiedler y Schipp, 1990; Springer *et al.* 2005); el estudio de aminas biógenas, ampliamente estudiadas en base a sus efectos en el organismo humano (Kalac y Krausova, 2005; Rauscher-Gabernig *et al.*, 2009) y en determinadas especies acuícolas de interés (Watanabe *et al.*, 1987; Tapia-Salazar *et al.*, 2004) indican que pueden provocar situaciones de comportamiento que minimicen la alimentación del pulpo, al interferir en mecanismos fisiológicos de forma negativa, y sobre este tema poca información hay. Aunque existen hipótesis o comentarios de que el pulpo puede ser carroñero, como los peces que pueden encontrar en determinadas situaciones en el medio natural o bien como los que se suele alimentar, el emplear una misma especie pesquera con diferentes grados de alteración puede influir en este sentido. El estudio de aminas biógenas es importante pues es un reflejo de este grado de frescura. En este trabajo, los peces empleados (*Micromesistius poutassou*) se hallan justo por debajo del nivel de rechazo para consumo humano (Categoría C), procedentes de los residuos de lonjas pesqueras, y el simple proceso de elaboración de cebos incrementa estos niveles, especialmente de Agmatina y Cadaverina, a pesar de trabajar en condiciones de refrigeración durante la elaboración de los cebos. Varios autores (Yamanaka *et al.*, 1987; Yamanka *et al.*, 1989; Paarup *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2007) indican que la Agmatina es la principal amina formada durante el deterioro microbiológico del manto de cefalópodos decápodos en condiciones de refrigeración, lo cual podría explicar este alto valor de Agmatina, a pesar de sólo incorporar un 10% de pota, ya que en peces de carne blanca o magra la amina predominante en estas condiciones es la Cadaverina (Mackie *et al.*, 1987; Ruíz-Capillas y Moral, 2001; Baixas-Nogueras *et al.*, 2005; Oezogul *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009). En concreto, la alta tasa de Agmatina indica una degradación importante del precursor aminoácido libre Arginina (Kalac y Krausova, 2005), lo cual indica que es un nutriente muy susceptible, y tal como han comentado otros colegas (Cerezo, J., "com. pers.") durante el desarrollo del presente proyecto la arginina ha mostrado ser uno de los nutrientes esenciales; el grado de frescura de las materias primas ha de ser máxime; si bien, la Agmatina y la Putrescina son unas aminas con un grado de estimulación olfativo alto en el medio acuoso para determinadas especies de peces con hábitos carroñeros, como *Danio rerio* (Michel *et al.*, 2003),

aunque en el caso del pulpo no hay estudios en este sentido. En base a los resultados que se obtengan de los últimos lotes desarrollados para el engorde del pulpo, queremos contrastar el mejor de los lotes obtenidos con el empleo del mismo pescado recién capturado (categoría de fresca E o A alto a escala humana).

Conclusiones generales.

ETPP-USC, CIMA, C.A. de Galicia.

Los ensilados de pescado, que para alimentación de otros animales se suele mezclar con otros ingredientes vegetales, en el caso de elaboración de dietas semihúmedas para pulpo presenta problemas técnicos para una adecuada neutralización y gelificación. Pese a la estabilidad nutricional en un periodo de un mes de ensilados químicos, la solidificación de la masa licuada es compleja al tiempo que se generan compuestos característicos de alteración aunque a bajas concentraciones, lo que puede indicar que otras sustancias generadas en estas condiciones puedan ejercer un carácter repelente en los pulpos, por lo que el uso de la técnica de ensilaje no es adecuada en la alimentación del pulpo.

La bacaladilla o lirio (*Micromesistius poutassou*) es una buena base proteica para realizar dietas artificiales, con un perfil de aminoácidos en principio adecuado, que se pueden complementar con sustancias esenciales (colesterol, minerales o aminoácidos), si bien, es preciso encontrar un soporte estructural que mantenga el conjunto de ingredientes para la correcta manipulación, ingesta y absorción por parte del pulpo. Aparentemente, la proteína de soja a bajas concentraciones (2%) muestra ser el ligante adecuado, que evita aplicar calor y al menos no interfiere en la absorción de determinados minerales.

Por otro lado, el incorporar hasta un 10% de pota (*Todaropsis eblanae*) mejora las características físicas de los reestructurados de dietas artificiales, al tiempo que al tener una gran riqueza en colesterol y minerales, es un ingrediente muy adecuado para una dieta artificial, que suple las deficiencias del lirio en estos compuestos.

A la espera de los últimos resultados de digestibilidad y engorde, los hidrocoloides de carácter hidrocarbonado o glucídico o aquellos hidrocoloides que precisen de calor para su gelificación no son adecuados para usar como estabilizantes en la producción de dietas artificiales para el pulpo. Los residuos o subproductos de industrias pesqueras transformadoras, que hayan sido sometidos a calor, no son adecuados para alimentar a los pulpos pues el calor desnaturaliza o destruye algunos nutrientes e impide un correcto ataque enzimático en el sistema digestivo del animal, careciendo de una adecuada asimilación, a pesar de su riqueza en colesterol, ciertos ácidos grasos y minerales, como ocurre en el caso de mejillón cocido al usarlo como materia prima.

BIBLIOGRAFÍA

- Adour, L., Arbia, W., Amrane, A., Mameri, N. 2008. Combined use of waste materials recovery of chitin from shrimp shells by lactic acid fermentation supplemented with date juice waste or glucose. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 83(12):1664-1669.
- Aguado, F., García-García, B., 2003. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier /1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquacu. Int.* 10(5), 361-377.
- Aguila, J., Cuzon, G., Pascual, C., Domingues, P.M., Gaxiola, G., Sánchez, A., Maldonado, T., Rosas, C., 2007. The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: Digestive enzyme activity, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture*. 273: 641-655.
- Antonacopoulos, N., Vyncke. 1989. Determination of volatile basic nitrogen in fish: a third collaborative study by the Western European Fish Technologists' Association (WEFTA). *Z. Lebens.u.Forsch.*, 189:309-316.
- AOAC, 1996. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- Aryee, A.; Simpson, B.K. 2009. Comparative studies on the yield and quality of solvent-extracted oil from salmon skin. *J. Food Eng.*, 92(3): 353-358.
- Aubourg, S.; Gallardo, J.M.; Medina, I. 1997. Changes in lipids during different sterilizing conditions in canning albacore (*Thunnus alalunga*) in oil. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 32(5): 427-431.
- Baixas-Nogueras, S.; Bover-Cid, S.; Veciana-Nogues, M.T.; Marine-Font, A.; Vidal-Carou, M.C. 2005. Biogenic amine index for freshness evaluation in iced Mediterranean Hake (*Merluccius merluccius*). *J. Food Prot.* 68(11):2433-2438.
- Bhattacharyya, S., Borthakur, A., Dudeja, P.K., Tobacman, J.K., 2007. Carrageenan reduces bone morphogenetic protein-4 (BMP4) and activates the wnt/bea-catenin pathway in normal human colonocytes. *Dig. Dis. Sci.* 52(10): 2766-2774.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.*, 37:911-917.
- Cerezo, J., Hernández, M.D., Aguado, F., García, B., 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diet. *Aquaculture*. 275: 266-273.
- Cohen, S.M., Ito, N., 2002. A critical review of the toxicological effects of carrageenan and processed *Eucheuma* seaweed on the gastrointestinal tract. *Crit. Rev. Toxicol.* 32(5): 413-444.
- Domingues, P., Ferreira, A., Márquez, L., Andrade, J.P., López, N., Rosas, C., 2008. Growth, absorption and assimilation efficiency by mature cuttlefish (*Sepia officinalis*) fed with alternative and artificial diets. *Aquacult. Int.* 16(3): 215-229.
- Domingues, P.M., López, N., Muñoz, J.A., Maldonado, T., Gaxiola, G., Rosas, C., 2007. Effects of a dry pelleted diet on growth and survival of the Yucatan octopus, *Octopus maya*. *Aquac. Nut.* 13(4): 273-280.

- Domingues, P.M., Márquez, L., López, N., Rosas, C., 2009. Effects of food thermal treatment on growth, absorption, and assimilation efficiency of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquacult. Int.* 17(3): 283-299.
- Fiedler, A., Schipp, R., 1990. The effects of biogenic monoamines and related agonists and antagonists on the isolated, perfused branchial heart of *Sepia officinalis* L (Cephalopoda). *Comp. Biochem. Physiol. C-Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 97(1): 71-78.
- Gao, J.C., Pigott, G.M., Reine, B. 1999. Gel forming additive effects on properties of thermally induced minced fish gel. *J. Food Sci.* 64(3):414-417.
- García, S. Garrido, D., Rosas, C., Rodríguez, C.J., Pascual, C., Sykes, A., Domíngues, P. (en preparación a). Caracterización de la actividad enzimática del jugo gástrico del pulpo, *Octopus vulgaris*, y del choco, *Sepia officinalis*, a distinto pH, digestibilidad *in vitro* de distintas dietas, con jugo gástrico de pulpo. En: XII Foro dos Recursos Mariños da Acuicultura das Rías Galegas, 8-9 octubre 2009, O Grove (Pontevedra).
- García, S., Domíngues, P., Garrido, D., Rodríguez, C.J., Pascual, C. (en preparación b). Efecto de dietas artificiales, con y sin atrayente, sobre el crecimiento del pulpo común, *Octopus vulgaris*. En: XII Congreso Nacional de Acuicultura, 24-26 noviembre 2009, Madrid.
- Guerrero, S., Pascual, C., Barja, J.L., Romalde, J.L., Brea, M.D., Prado, S., Rodríguez, C.J., Fernández de Landa, J.L., 2006. Preliminary results on the silage of residues from marine and freshwater aquaculture. Abstracts AQUA2006, pp:801. Florencia (Italia).
- Kalac, P; Krausova, P. 2005. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chem.*, 90(1-2): 219-230.
- Ke, P.J., Burns, B.G., Helbig, N.B. 1990. Biochemical methods of fish quality evaluation. MUN Publ. Services. Canada: 198 pp.
- Kenny, A.M., Mangano, K.M., Abourizk, R.H., Bruno, R.S., Anamani, D.E., Kleppinger, A., Walsh, S.J., Prestwood, K.M., Kerstetter, A., 2009. Soy proteins and isoflavones affect bone mineral density in older women: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 90(1): 234-242.
- Kim, M.K.; Mah, J.H.; Hwang, H.J. 2009. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *Food Chem.* 116(1):87-95.
- Lamas, L., Pascual, C., 1995. Composición química y valor nutritivo de los ensilados de pescado en dietas destinadas a la acuicultura. En . *Acuicultura Mariña en Galicia* pp: 191-207. Ediciós do Castro, La Coruña
- Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., 2007. Molecular aspects of cereal beta-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *J. Cereal. Sci.* 46(2): 101-118.
- López, M., Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Brea, M.D., Pais, R., Rodríguez, C.J., Guerrero, S., 2009. Experiencias de engorde de juveniles de pulpo (*Octopus vulgaris*) con distintos tipos de cebos. XI Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal., 11:475-483.
- Mackie, I.M.; Pirie, L.; Ritchie, A.H.; Yamanaka, H. 1987. The formation of non-volatile amines in relation to concentrations of free basic amino acids during postmortem storage of the muscle of scallop (*Pecten maximus*), herring (*Clupea harengus*) and mackerel (*Scomber scombrus*). *Food Chem.* 60(3):291-295.

- Manirakiza, P.; Covaci, A.; Schepens, P. 2001. Comparative study on total lipid determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and modified Bligh & Dyer extraction methods. *J. Food Comp. Anal.*, 14(1): 93-100.
- Michel, W.C., Sanderson, M.J., Olson, J.K., Lipschitz, D.L. 2003. Evidence of a novel transduction pathway mediating detection of polyamines by the zebrafish olfactory system. *J. Experimental Biol.*, 206(10):1697-1706.
- Miliou, H., Fintikaki, M., Kountouris, T., Verriopoulos, G., 2005. Combined effects of temperature and body weight on growth and protein utilization of the common octopus, *Octopus vulgaris*. *Aquaculture*. 249: 245-256.
- Min, B, Green, B.W. 2008. Use of microbial transglutaminase and nonmeat proteins to improve functional properties of low NaCl, phosphate-free patties made from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) belly flap meat. *J. Food Sci.* 73(5):218-226.
- Mohan, C.O.; Ravishankara, C.N.; Gopal, T.K.S., Kumar, K.A., Lalitha, K.V., 2009. Biogenic amines formation in seer fish (*Scomberomorus commerson*) steaks packed with O₂ scavenger during chilled storage. *Food Res. Int.*, 42(3): 411-416.
- Nagata, J., Yamada, K., 2009. Effects of simultaneous intake of soybean protein and diacylglycerol on lipid profiles and body fat accumulation in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73(6): 1328-1332.
- Ockerman, H.W., Hansen, C.L., 1994. Industrialización de subproductos de origen animal. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Oezogul, F.; Oezogul, Y.; Kuley, E. 2008. Nucleotide degradation and biogenic amine formation of wild white grouper (*Epinephelus aeneus*) stored in ice and at chill temperature (4°C). *Food Chem.* 108(3):933-941.
- Oezogul, F; Oezogul, Y. 2007. The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial cultures. *European Food Res. Technol.*, 225(3-4): 385-394.
- Oezogul, F; Oezogul, Y; Kuley, E. 2009. Nucleotide degradation and biogenic amine formation of wild white grouper (*Epinephelus aeneus*) stored in ice and at chill temperature (4 degrees C). *Food Chem.*, 108(3): 933-941.
- Ohta, A., Taguchi, A., Takizawa, T., Adachi, T., Kimura, S., Hashizume, N., 1997. The alginate reduce the postprandial glycaemic reponse by forming a gel with dietary calcium in the stomach of the rat. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 67(1): 55-61.
- Oltra, R., Alemany, F., Roig, M., Mezquita, F., 2005. Engorde de pulpo *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 en jaula flotante en la costa mediterránea de Levante. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21 (1-4): 187-194.
- Opstvedt, J., Mundheim, H., Nygard E., Aase, H., Pike, I.H. (2000). Reduced growth and feed consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish meal made from stale fish is not due to increased content of biogenic amines. *Aquaculture*, 188(3-4):323-337.
- Ottati, G.M., Bello, R.A., 1990. Ensilado microbiano de pescado en la alimentación porcina I: valor nutritivo del producto en dietas para cerdos. *Alimentaria*, 211:37-44.

- Ozyurt G., Kuley, E., Ozkutuk, S, Oezogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chem.*, 114(2): 505-510.
- Paarup, T; Sanchez, J; Moral, A; Christensen, H; Bisgaard, M; Gram, L 2002. Sensory, chemical and bacteriological changes during storage of iced squid (*Todaropsis eblanae*). *J. Appl. Microbiol.* 92(5):941-950.
- Polat, A., Beklevik, G., 1999. The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives. In *Recent Advances in Research and Technology*. Ed. CIHEAM-IAMZ, Zaragoza. 411 pag.
- Quintana, D., Domingues, P., García, S., 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture*. 280: 161-164.
- Ramírez, J.A., Del Ángel, A., Uresti, R.M., Velazquez, G., Vázquez, M., 2007. Low-salt restructured products from striped mullet (*Mugil cephalus*) using microbial transglutaminase or whey protein concentrate as additives. *Food Chem.* 102: 243-249.
- Ramírez, J.A., Del Ángel, A., Uresti, R.M., Velazquez, G., Vázquez, M., 2007. Low-salt restructured fish products using low-value fish species from the gulf of Mexico. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42: 1039-1045.
- Rauscher-Gabernig, E; Grossgut, R; Bauer, F, Paulsen, P. 2009. Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods. *Food Control*, 20(4): 423-429.
- Rodriguez, C.J., Besteiro, I., Pascual, C. 1999. Biochemical changes in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *J. Sci. Food and Agric.*, 79(11): 1473-1480.
- Rosas, C, Cuzon, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Chay, D., López, N., Maldonado, T., Domíngues, P.M. 2007, Energy balance of Octopus maya fed crac ora n artificial diet. *Mar. Biol.* 152:371-381.
- Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sánchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domingues, P., Cuzon, G., 2008. Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*. *Aquaculture*. 275: 291-297.
- Ruiz-Capillas, C.; Moral, A. 2001. Formation of biogenic amines in bulk-stored chilled Hake (*Merluccius merluccius* L.) packed under atmospheres. *J. Food Prot.* 64(7):1045-1050.
- Seal, C.J., Mathers, J.C., 2001. Comparative gastrointestinal and plasma cholesterol responses of rats fed on cholesterol-free diets supplemented with gum guar and sodium alginate. *Br. J. Nutr.* 85(3): 317-324.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (Boops boops) de descarte de la acuicultura. En: *X Congreso Nacional de Acuicultura*. Pag: 428-429. Gandía.
- Springer, J., Ruth, P., Beuerlin, K., Palus, S., Schipp, R., Westermann, B., 2005. Distribution and function of biogenic amines in the heart of *Nautilus pompilius* L. (*Cephalopoda Tetrabranchiata*). *J. Mol. Histol.* 36(5): 345-353.

- Tapia-Salazar, M., Smith, T., Harris, A. Cruz-Suárez, L., Ricque-Merie, D. (2004) Response of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to dietary cadaverine supplementation. *Aquac. Res.*, 35(11), 10:1092-1098.
- Tobacman, J.K., Wallace, R.B., Zimmerman, M.B., 2001. Consumption of carrageenan and other water-soluble polymers used as food additives and incidence of mammary carcinoma. *Med. Hypotheses*. 56(5): 589-598.
- Tokur, B. 2007. The effect of different cooking methods on proximate composition and lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J. Food Sci. Technol.*, 42(7): 874-879.
- Vandanjon, L., Johannsson, R., Derouiniot, M., Bourseau, P., Jaouen, P., 2007. Concentration and purification of blue whiting peptide hydrolysates by membrane processes. *J. Food Eng.* 83: 581-589.
- Veciana, M.T., Izquierdo, T., Mariné, A., Vidal, M.C.. 1995. Liquid chromatographic method for determination of biogenic amines in fish and fish products. *J. AOAC*, 78:1045-1050.
- Villanueva, R., Bustamante, P., 2006. Composition in essential and non-essential elements of early stages of cephalopods and dietary effects on the elemental profiles of *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*. 261: 225-240.
- Vizcarra-Magaña, L.A.; Avila, E., Angela Sotelo, A., 1999. Silage preparation from tuna fish wastes and its nutritional evaluation in broilers. *J. Sci. Food Agric.*, 79:1915-1922.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Satoh, S., Toyama, K., Okuzumi, M. (1987). Effect of dietary histidine or histamine on growth and development of stomach erosion in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 53(7):1207-1214.
- Yamanaka, H; Shimakura, K; Shiomi, K; Kikuchi, T; Okuzumi, M. 1989. Changes in polyamine contents of common squid and scallop during storage. *J. Food Hyg. Soc. Jp.* 30(4):289-294.
- Yamanaka, H; Shiomi, K; Kikuchi, T. 1987. Agmatine as a potential index for freshness of common squid (*Todarodes pacificus*). *J. Food Sci.* 52(4):936-938.
- Zhao, Q.X.; Xu, J.; Xue, C.H.; Sheng, W.J.; Gao, R.C.; Xue, Y.; Li, Z.J. 2007. Determination of biogenic amines in squid and white prawn by high-performance liquid chromatography with postcolumn derivatization. *J. Agric. Food Chem.* 55(8):3083-3088.

2.5. Desarrollo de piensos extrusionados.

2.5.1. Fabricación y aceptabilidad de piensos extrusionados en acuarios y ajulas.

UPV (Valencia).

Objetivo

Uno de los principales problemas del desarrollo industrial del engorde del pulpo se centra en la ausencia de piensos artificiales que sean aceptados y cubran las necesidades nutritivas de esta especie.

En los últimos años se han realizado diferentes trabajos con dietas húmedas (Cerezo y García, 2007, Estefanell y col., 2007) y secas (Domingues y col., 2007) en pulpo donde la aceptación ha sido buena, aunque con un crecimiento inferior que con un alimento natural. El objetivo de este trabajo es estudiar la aceptación y el crecimiento individual del pulpo alimentado con cangrejo y un pienso extrusionado y las características físicas de estas dietas con distintos aglomerantes.

2.5.1.1. Ensayo 1

Material y Métodos

En esta primera prueba se diseñó e instaló un sistema de recirculación de agua marina (Fotografía 1) consistente en tres acuarios por línea (con un total de dos líneas) de 150 l de capacidad, un biofiltro, una espumadera y un aljibe de 300 l, para la posterior ubicación de los pulpos.



Fotografía 1. Estabulación de los pulpos dentro de los acuarios en la Prueba 1.

Se estabularon 12 pulpos con un peso medio inicial superior a 500 g procedentes del IMIDA de Murcia, en acuarios con una capacidad de 150 l y en tanques de 750 l. La primera noche murieron los seis pulpos de los tanques y los de los acuarios fueron alimentados durante un periodo de aproximadamente un mes con cangrejo. A continuación comenzó la prueba de aceptación con únicamente 6 ejemplares de pulpo.

En un principio se diseñaron 6 piensos (Tabla 13) que contenían harina de pescado, harina de krill, trigo, vitaminas y en los que se iba incrementando hasta en un 50% el porcentaje de “huevo” (H0, H10, H20, H30, H40 y H50). En el periodo de fabricación se desestimó el H50 por su gran disgregación tras la extrusión.

Tabla 13. Composición de los piensos experimentales con huevo (g/Kg).

Pienso	Harina Pescado	H. Krill	Trigo	Huevo	Vitaminas
H0	321,1	320,8	339,7	0,0	18,4
H10	288,5	288,3	305,2	99,5	18,4
H20	255,9	255,7	270,7	199,2	18,4
H30	223,3	223,1	236,2	299,0	18,4
H40	190,6	190,4	201,6	399,0	18,5
H50	157,8	157,7	166,9	499,0	18,5

El pienso H50 fue el primero en ser extrusionado, pero fue desechado inmediatamente ya que salía una pasta muy poco compacta, debido seguramente a la alta cantidad de huevo. Por lo tanto, este pienso se desestimó para futuras pruebas con los pulpos.

Antes de comenzar a fabricar el resto de los piensos, y visto lo que había pasado con el H50, se decidió hacer sólo el H10 para comprobar si el efecto de la huevo era representativo en la fabricación. Las pruebas físicas del pienso H10 pueden verse en la Tabla 14.

Tabla 14. Pruebas físicas del pienso H10 para el pulpo.

Pienso	Durómetro	Flotabilidad en columna
H10	5,5	No se hunde

Escala durómetro: 0-10.

Una vez probado este pienso con los pulpos, se encontró como principal problema la disgregación del mismo ante la manipulación del pulpo, por lo que se decidió añadir a dicho pienso un 8% de gelatina (en adelante H10G). Las pruebas físicas de este pienso H10G están en el Tabla 15.

Tabla 15. Pruebas físicas del pienso H10 para el pulpo.

Pienso	Durómetro	Flotabilidad en columna
H10G	6	Se hunde a los 2,6

Escala durómetro: 0-10.

Debido a que la gelatina no solucionó prácticamente los problemas de disgregación, se reformularon los piensos añadiendo Maltodextrina. Las composiciones de las demás materias primas se reajustaron (Tabla 16).

Sólo se extrusionó el H0M para comprobar si la huevina estaba afectando a la compactación y estabilidad del pienso. Las pruebas físicas el pienso H0M se encuentran en la Tabla 17.

Tabla 16. Composición de los piensos experimentales II con maltodextrina (g/kg).

Pienso	Harina Pescado	H. Krill	Trigo	Huevina	Vitaminas	Maltodextrina
H0M	325,0	324,7	238,5	0,0	18,6	93,1
H10M	292,0	291,8	203,6	100,7	18,6	93,2
H20M	259,0	258,8	168,6	201,6	18,6	93,2
H30M	226,0	225,8	133,6	302,6	18,7	93,3
H40M	192,9	192,7	98,5	403,8	18,7	93,4

Tabla 17. Pruebas físicas del pienso H10 para el pulpo.

Pienso	Durómetro	Flotabilidad en columna
H0	4	Se hunde al 1 seg.

Escala durómetro: 0-10.

En este caso el pulpo no aceptó el pienso. Se decidió probar un nuevo aglomerante para ver el comportamiento del pulpo, el alginato sódico que se añadió en un 20, 30 y 40 % (Tabla 18). Las pruebas físicas de los nuevos piensos podemos verlas en la Tabla 19.

Tabla 18. Composición de los piensos experimentales III con alginato sódico (g/kg)

Pienso	Harina Pescado	H. Krill	Trigo	Alginato	Vitaminas	Maltodextrina
A20	259,1	258,7	168,7	201,7	18,7	93,3
A30	226,0	225,9	133,6	302,5	18,7	93,3
A40	192,9	192,7	98,5	403,9	18,7	93,4

Tabla 19. Pruebas físicas de los piensos con alginato para el pulpo

Pienso	Durómetro	Flotabilidad en columna
A20	6	Se hunde a los 3 seg
A30	No rompe	Se hunde a los 2 seg
A40	No rompe	Se hunde a los 3 seg

Escala durómetro: 0-10.

Resultados y Discusión

Parámetros físico-químicos del agua

El circuito cerrado en el que se encontraban los acuarios con los pulpos, estaba formado por tres acuarios, de ahí que la media de los parámetros físico-químicos (Tabla 20) durante la prueba de aceptación esté dividida el Grupo A (Acuarios 1, 2 y 3) y Grupo B (Acuarios 4, 5 y 6).

Tabla 20. Datos medios de los parámetros físico-químicos.

Grupo	Oxígeno ppm	Temperatura °C	pH	Amonio mg/l	Nitritos mg/l	Nitratos mg/l	Salinidad ‰
A	7.1	16.4	7	0	0.3	11.8	37.5
B	7.2	16.4	6.9	0	0.3	14.9	37.1

Prueba de aceptación

De los 6 piensos diseñados con huevina, como s3 ha visto en el material y métodos se decidió probar en primer lugar el H10 (Tabla 21). Únicamente el 40% de los pulpos aceptaron el pienso que retuvieron durante aproximadamente 10 minutos, soltándolo a continuación, originando una gran disgregación en el agua.

Durante este periodo se produjo la primera baja de los pulpos de la presente prueba (el pulpo 2).

Vistos los resultados de disgregación, se decidió añadir al pienso gelatina (H10G). Aceptación del 60-100% (durante tres días seguidos, Tablas 22 y 23) por parte de los pulpos, aunque únicamente el 40% lo retienen durante más de 5 minutos el primer día y sólo un pulpo el tercero; en el pienso se pueden observar "picotazos".

Tabla 21. Comportamiento de los pulpos frente al pienso extrusionado H10.

	Número de pulpo					
	1	2	3	4	5	6
Acepta	No		No	Si	Si	No
Retiene	No		No	Si	Si	No
Come				si		
Suelta				13 min.	6 min.	
Disgrega				Si	Si	
<i>Enturbia</i>	No		No	No	No	No

Tabla 22. Comportamiento de los pulpos frente a pienso extrusionado H10G (28/04/2009).

	Número de pulpo					
	1	2	3	4	5	6
Acepta	si		si	si	si	si
Retiene	si		si	si	si	si
Come	si		si	no	no	no
Suelta	10 min		4 min	1 min	1 min	2 min
Disgrega	si		si			si
<i>Enturbia</i>	si		si	si	si	si

Tabla 23. Comportamiento de los pulpos frente a pienso extrusionado H10G (30/04/2009).

	Número de pulpo					
	1	2	3	4	5	6
Acepta	Si		No	Si	Si	No
Retiene	Si		No	Si	Si	No
Come	Si					
Suelta	6 min			1 min	1 min	
Disgrega				No	No	
<i>Enturbia</i>	Si		Si	Si	Si	Si

Debido a la disgregación notable del pienso, a pesar de la gelatina, se decidió reformularlos añadiendo un 10% de maltodextrina en todas las dietas. Sólo se extrusionó el H0M (con maltodextrina) para comprobar si la huevina influía en la disgregación (Tabla 24), 0% de aceptación, pero también 0% de disgregación. En este momento ya sólo quedaban tres de los seis pulpos.

Tabla 24. Comportamiento de los pulpos frente a pienso extrusionado H0M.

	Número de pulpo					
	1	2	3	4	5	6
Acepta	No		No	No		
Retiene						
Come						
Suelta						
Disgrega	No		No	No		
Enturbia	No		No	No		

Al parecer la huevina no es un buen aglomerante por lo que se decidió eliminarla completamente, a pesar de que por los resultados obtenidos al pulpo parece que le gustaba, y añadir alginato sódico en un 20, 30 y 40% (A20, A30 y A40). Aceptación nula. A partir de este momento, entre 15 y 30 días se murieron todos los pulpos.

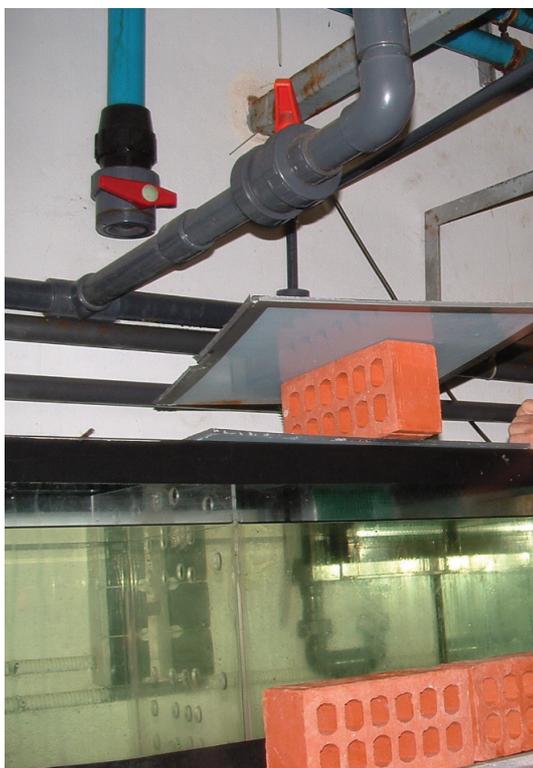
2.5.1.2. Ensayo 2

Material y Métodos

Ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados con arte de arrastre y alojados en las instalaciones del IMIDA de Murcia antes de ser trasladados a las instalaciones del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, donde fueron transferidos a acuarios individuales (Fotografía 2) de 150 l mantenidos en circuito cerrado (T= 18°C). El experimento comenzó tras un periodo de adaptación de aproximadamente un mes, periodo en el cual se les alimentó con cangrejo (*Carcinus mediterraneus*). Durante cuatro semanas se ensayaron dos tipos de dietas: un pienso extrusionado a base de krill, trigo, gelatina y maltodextrina y una dieta control a base de cangrejo.

El procesado de los piensos se realizó en un extruder semi-industrial Clextral modelo BC45., cuyas condiciones de velocidad, presión y temperatura son 20 r.p.m, 40 atm y 125 °C respectivamente, 10 mm de diámetro y entre 8 y 10 cm de longitud del pellet.

Ambas dietas se suministraron seis días a la semana en una única toma a las 10 de la mañana, recogiendo el alimento sobrante a las tres horas, que se secó y se pesó para calcular la ingesta diaria.



Fotografía 2. Detalle de uno de los acuarios donde se realizaron las pruebas de aceptación y engorde, con ladrillos para evitar el escape de los pulpos.

Resultados y Discusión

Aceptación del pienso: El pienso extrusionado fue aceptado por los ejemplares de pulpo, que estuvieron consumiéndolo diariamente desde el principio hasta el final del experimento, ya que aunque algunos días no cogieron el pienso, tampoco los pulpos alimentados con el cangrejo se alimentaron todos los días. Los pulpos fueron pesados individualmente al final del ensayo (Fotografía 3).



Fotografía 3. Recogida y pesaje de los pulpos durante los muestreos de peso.

Prueba de crecimiento. La evolución del peso se representa en la Figura 2, en la cual podemos observar que durante los primeros quince días el crecimiento de los pulpos alimentados con los dos tipos de dietas fue positivo, aumentando una media de unos 10 g los alimentados con cangrejo y de 30 g los que comían el pienso extrusionado. En el segundo periodo, la tasa de alimentación disminuyó en ambas dietas, y prácticamente todos los ejemplares perdieron peso.

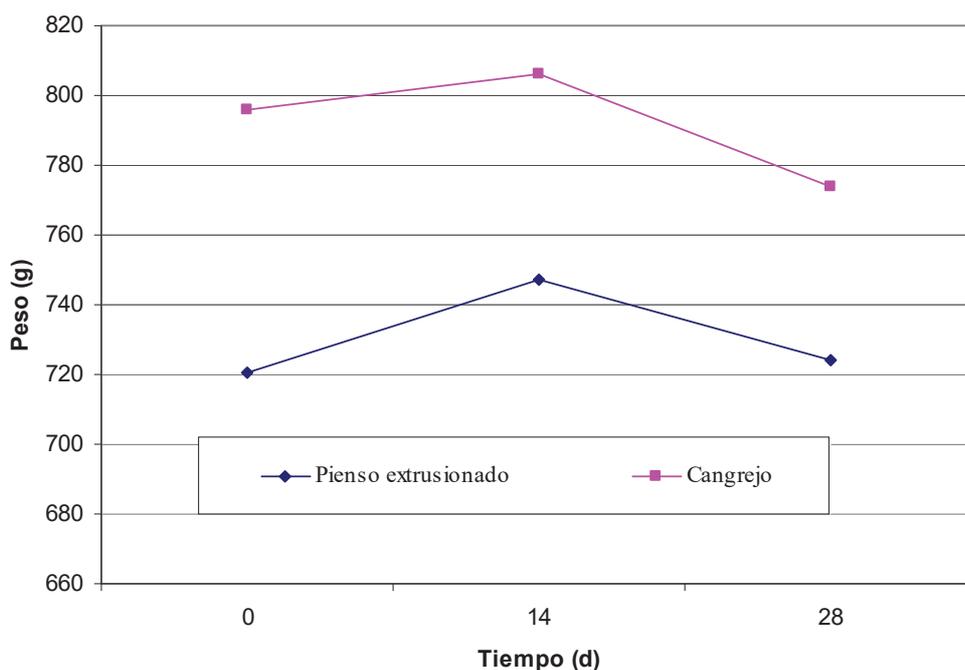


Figura 2. Peso inicial, intermedio y final de los piensos alimentados con pienso extrusionado y cangrejo.

Los ejemplares alimentados con pienso extrusionado presentaron una menor tasa de alimentación diaria (Tabla 25), lo que coincide con trabajos anteriores con piensos húmedos (Cerezo y García, 2007) o piensos secos (Domingues y col., 2007). No hubo diferencias significativas en el crecimiento, aunque en los pulpos alimentados con cangrejo se produjo una ligera disminución respecto al peso inicial, esto junto con la mayor ingesta hace que el índice de conversión con esta dieta sea superior, lo cual difiere de todos los trabajos realizados hasta el momento con piensos húmedos (Cerezo y García, 2007, Estefanell y col., 2007) o piensos secos (Domingues y col., 2007), donde siempre el crecimiento con alimento natural era significativamente superior que con el resto de dietas.

Todos los autores coinciden en que los pulpos alojados en acuarios no crecen bien, siendo un sistema solo apropiado para pruebas de digestibilidad, por lo que los próximos ensayos se realizarán en tanques.

Tabla 25. Índices de crecimiento y aprovechamiento nutritivo de las dietas.

Parámetro	Pienso extrusionado (N = 4)	Cangrejo (N =2)
Peso inicial (g)	720.7	796.0
	±53.4	±65.4
Peso final (g)	749.4	735.8
	±35.8	±44.9
TCI (%/día)	0.11	-0.05
	±0.07	±0.07
TAD(g 100 g/d)	0.65 ^b	1.87 ^a
	±0.08	±0.10
<i>Índice de Conversión</i>	5.2	14.4
	±2.1	±3.0

2.5.1.3. Ensayo 3

Material y Métodos

40 ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados con arte de arrastre y alojados en las instalaciones del IMIDA de Murcia antes de ser trasladados a las instalaciones del Instituto de Ciencia y tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, donde fueron transferidos a jaulas individuales de 175 l (Fotografía 4) mantenidos en circuito cerrado (Fotografía 4) (T= 18°C), para su adaptación.

Resultados

Los pulpos se alimentaron con diferentes piensos extrusionados conteniendo varios niveles de harinas de pescado, calamar, krill y mejillón, pero se produjo una mortalidad masiva que obligó a dar por acabado el ensayo sin obtener ningún resultado.

Es probable que el confinamiento de los pulpo en malla de plástico no sea adecuado para su bienestar.



Fotografía 4. Circuito actual del pulpo donde se observan los tanques y la espumadera para limpieza de sólidos.

2.5.2. Fabricación y aceptabilidad de piensos extrusionados en tanques.

UPV (Valencia).

2.5.2.1.- Ensayo 1: Diseño y construcción de un nuevo sistema para pulpos en un circuito cerrado

Objetivo

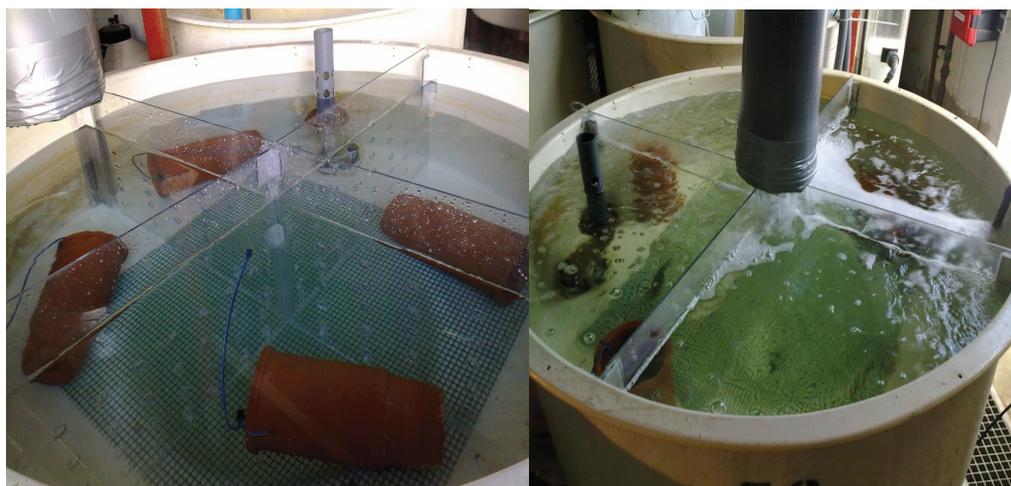
Debido a los problemas de mortalidad que se tuvieron en la prueba de crecimiento con piensos extrusionados en las jaulas ubicadas en un circuito cerrado en las instalaciones del laboratorio de Acuicultura de la Universidad Politécnica de Valencia, se decidió realizar un experimento diseñando diferentes sistemas para la ubicación de los pulpos y así poder llevar a cabo las diferentes pruebas de crecimiento.

Material y métodos

Para llevar a cabo el diseño y construcción de un nuevo sistema para pulpos en un circuito cerrado se contó con ocho tanques circulares de fibra de vidrio con una capacidad de 750 l, en dos de los cuales se probaron los dos sistemas del estudio. Para ello se utilizaron 7 pulpos de 1kg de peso procedentes del Puerto de Sagunto, cedidos a la Universidad por un pescador de la zona en enero de 2010.

Sistema 1

En este primer sistema se decidió dividir el tanque en cuatro porciones, mediante placas de metacrilato, de manera que cada compartimento quedaba comunicado con los del lado mediante orificios realizados en las placas para favorecer la circulación del agua en los mismos (Fotografía 5).



Fotografía 5. Detalle general del Sistema 1.

En cada uno de los compartimentos se introdujo un cadufo (trampa de arcilla abierta en la parte delantera y con un orificio de salida del agua en la trasera, utilizado habitualmente en la pesca del pulpo) para los pulpos. La entrada de agua limpia se realiza por la parte superior del tanque y la salida por un tubo de desagüe superior instalado en el mismo tanque y que a su vez marca la altura del agua del tanque. Una

vez introducidos los pulpos en el sistema el tanque se cerró con una red sujeta al tanque para evitar la huida de los mismos (Fotografía 6), la cual se abría diariamente para alimentar y quitar los restos.



Fotografía 6. Detalle la malla para evitar el escape de los pulpos y de un pulpo metido en el cadufo.

Sistema 2

En este caso el tanque únicamente sirvió de soporte para el habitáculo de los pulpos y aprovechar así la circulación de agua del sistema. Así, dentro de cada tanque se introdujeron 3 cubos de plástico con una capacidad de 90 l (Fotografía 7).



Fotografía 7. Detalle general del Sistema 2.

El agua limpia entra al cubo gracias a una tubería conectada con la tubería general del sistema (dividida en tres una para cada uno de los cubos). Esta tubería consta de una llave de apertura y cierre del agua para facilitar la alimentación y la manipulación de los pulpos en el momento de los muestreos. La salida del agua del cubo se realiza gracias a unos agujeros realizados en el perímetro del mismo a la altura de

desagüe elegidos (similar a la del Sistema 1). Todas las tapas de los cubos fueron perforadas y selladas con una malla para la visualización de los pulpos en cualquier momento.

Resultados

Durante cuatro semanas los pulpos han permanecido en los dos sistemas alimentándose de alimento natural con una toma diaria y únicamente se murieron dos pulpos, uno de cada sistema, durante la primera semana como consecuencia del transporte de los mismos a nuestras instalaciones.

Por ello, parece lógico pensar que ambos sistemas han funcionado correctamente, de manera que en estos momentos se están adaptando el resto de los seis tanques del sistema, tres con los compartimentos de metacrilato y tres con los cubos individuales. Los piensos extrusionados están ya preparados para en el momento que lleguen pulpos empezar con la prueba de crecimiento.

2.5.2.2. Ensayo 2: Ampliación del número de tanques destinados a estos dos sistemas.

Material y métodos

A partir de los dos modelos de sistema de alojamiento, empleados en la prueba anterior, se prepararon y acondicionaron 8 tanques de fibra de vidrio de 750 litros de capacidad, para las necesidades de los dos sistemas alojamiento (Fotografía 8).

Se realizaron mediciones periódicas de temperatura, salinidad y pH, así como de amonio, nitritos y nitratos, los cuales se mantuvieron constantes y en niveles adecuados.



Fotografía 8. Detalles de las instalaciones del pulpo.

Los pulpos fueron pescados en la zona de Benicarló (Castellón), por pescadores de la zona mediante artes de arrastre. Tras su captura, se seleccionaron los ejemplares cuyo tamaño era menor, intentado que no superaran el kilogramo y medio de peso.



Fotografía 9. Detalle de la pesca de los pulpos.

Los ejemplares fueron transportados al laboratorio de acuicultura de la Universidad Politécnica en mayas individuales dentro de una cuba de transporte con oxígeno. Durante el transporte se realizaron comprobaciones regulares de la temperatura y oxígeno disuelto en agua, para asegurarse del bienestar de los animales.

Una vez en el laboratorio fueron alojados de forma individual en los dos sistemas ya preparados, bajo unas condiciones de salinidad de 35‰ y una temperatura media de 22 °C.

Los 32 animales presentaron unos pesos muy homogéneos, como pudimos comprobar el pesaje inicial que se realizó antes de comenzar a alimentarlos con las diferentes dietas preparadas. Los pesos oscilaban entre los 990 y los 1480 gramos, con un peso medio de 1170 gramos.



Fotografía 10. Pesaje y distribución de los pulpos.

Durante la fase experimental los pulpos fueron alimentados con 4 dietas diferentes, 3 fueron piensos secos extrusionados, con diferentes sustituciones de harina de pescado por harinas de krill, pota y mejillón. La otra dieta, fue la dieta control, donde la alimentación fue a base de cangrejo.

El procesado de los piensos se realizó en un extruder semi-industrial Clextral modelo BC45., cuyas condiciones de velocidad, presión y temperatura son 20 r.p.m, 40 atm y 125 °C respectivamente, 10 mm de diámetro y entre 8 y 10 cm de longitud (Fotografía 11).



Fotografía 11. Piensos utilizados para la prueba.

Los animales fueron alimentados diariamente en una sola toma, realizada a las 9 de la mañana. Cada ración se pesaba antes de ser suministrarla y luego al retirarla a media tarde (los restos del alimento que no habían sido ingeridos por el pulpo), se secaba para eliminar la humedad que hubiera cogido en el agua, a fin de averiguar, por diferencia de peso, la ingesta diaria de cada pulpo.

Resultados

La prueba tuvo que ser interrumpida durante la segunda semana de experimento, debido a una alta mortalidad, achacada al estrés que supuso la captura y traslado de mar abierto a un sistema de recirculación cerrado. Dentro de las posibles causas, sabiendo que los parámetros y calidad de agua eran los correctos, cabría pensar que Mayo, es un momento del año ya muy avanzado por las condiciones climáticas, para ser alojados en cautividad. Sería aconsejable comenzar las pruebas en estaciones del año más próximas al otoño.

Tras esta prueba, y habiendo trabajado con ambos sistemas, optamos por convertir los 8 tanques de fibra de vidrio, al sistema de cubos. Ya que permite una mejor visualización de los animales, y facilita el manejo.

2.5.2.3.- Ensayo 3: Aceptación

Objetivo

El objetivo de este trabajo es estudiar la aceptación y el crecimiento individual del pulpo alimentado con pescadilla y un pienso extrusionado.

Material y Métodos

Ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados con arte de arrastre en San Carlos de la Rápita y transportados trasladados a las instalaciones del Instituto de Ciencia y tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, donde fueron transferidos a tanques individuales (cubos, Fotografía 11) de 90 l mantenidos en circuito cerrado ($T= 18^{\circ}\text{C}$).



Fotografía 12. Detalle de los cubos donde se desarrolló el ensayo.

El procesado de los piensos se realizó en un extruder semi-industrial Clextral modelo BC45., cuyas condiciones de velocidad, presión y temperatura son 20 r.p.m, 40 atm y 125°C respectivamente, 10 mm de diámetro y entre 8 y 10 cm de longitud del pellet.

El experimento comenzó tras un periodo de adaptación de aproximadamente quince días, periodo en el cual se les alimentó con pescadilla. Durante dos semanas se ensayaron siete tipos de dietas: seis piensos extrusionados (Tabla 27) a base de harina de pescado, krill, calamar, mejillón, trigo, gelatina y distintas proporciones de dos gomas (goma xantana y garrofín) y una dieta control a base de pescadilla.

Todas las dietas se suministraron seis días a la semana en una única toma a las 10 de la mañana, recogiendo el alimento sobrante a las tres horas, que se secó y se pesó para calcular la ingesta diaria.

Tabla 27. Composición de los piensos experimentales (g/1000g).

Pienso	H.C.	H.P.	L.M.	H.K.	Trigo	Gel	Xant	Garr	A.P.	Mdx	Vit
X25	125	125	125	125	100	150	50	0	80	100	20
X50	125	125	125	125	100	100	100	0	80	100	20
X100	125	125	125	125	100	0	200	0	80	100	20
G25	125	125	125	125	100	150	0	50	80	100	20
G50	125	125	125	125	100	100	0	100	80	100	20
G100	125	125	125	125	100	0	0	200	80	100	20

H.C.: Harina de calamar, H.P.: Harina de pescado, L.M.: Liofilizado de mejillón, H.K.: Harina de krill, Gel: gelatina, Xant: Goma Santana, Garr: goma de garrofín, A.P. Aceite de pescado, Mdx: Maltodextrina, Vit: Vitaminas.

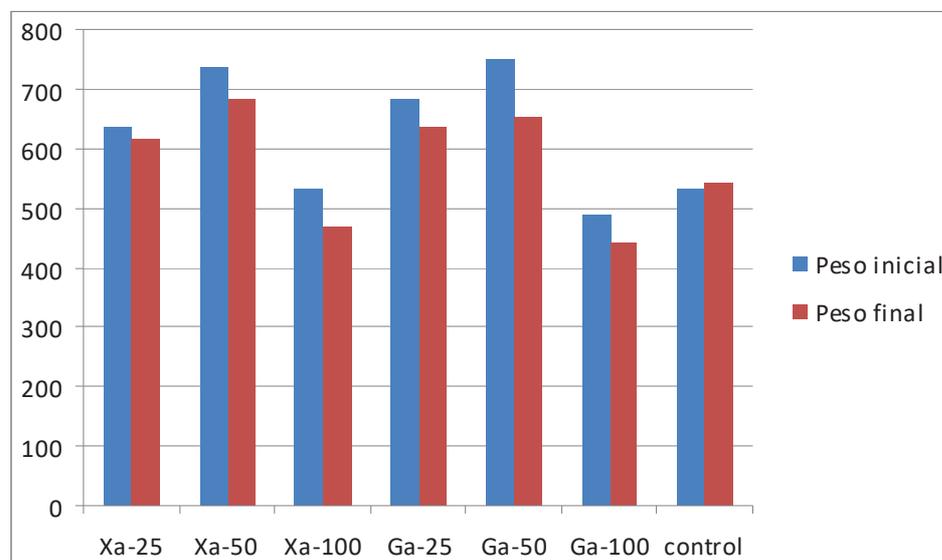


Figura 5. Peso inicial y final de los pulpos alimentados con los diferentes tratamientos.

Resultados y Discusión

Aceptación del pienso: El pienso extrusionado fue aceptado por los ejemplares de pulpo que estuvieron cogiéndolo diariamente desde el principio hasta el final del experimento aunque sin gran voracidad, ya que aunque algunos días no cogieron el pienso, tampoco los pulpos alimentados con la pescadilla se alimentaron todos los días.

Prueba de crecimiento: La evolución del peso se representa en la Figura 5, en la cual se puede observar que, durante los quince días que duró la prueba de crecimiento de los pulpos alimentados con las distintas dietas, prácticamente todos los ejemplares perdieron peso, a excepción de los alimentados con la dieta natural que mantuvieron el mismo peso.

Si se tiene en cuenta el crecimiento habitual del pulpo, ni siquiera los alimentados con alimento natural crecieron debidamente, seguramente por algún problema de adaptación al sistema, de ahí que no podemos decir que los piensos extrusionados fueran mal. Como las menores proporciones de gomas (25%) fueron las que dieron menores pérdidas de peso, y además el pienso era el menos duro (están pendientes las pruebas físicas de los piensos), se decidió utilizar estas dos para la prueba de engorde (apartado siguiente).

2.5.3. Engorde con dietas experimentales.

UPV (Valencia). Colabora IRTA (Cataluña).

Objetivo

Actualmente el engorde experimental de pulpo pasa por el uso de dietas basadas el empleo de biomasa fresca o congelada de diferentes proporciones de especies de crustáceos y peces. Es por ello que se plantea esta tarea que conduce a la obtención de resultados que permitan optimizar el sistema productivo en la faceta de la alimentación.

2.5.3.1. Ensayo 1. Instalaciones San Carles de la Rápita (IRTA)

Material y métodos

Ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados con arte de arrastre en San Carlos de la Rápita y transportados trasladados a las instalaciones del IRTA (San Carles de la Rápita), donde fueron transferidos a tanques y mantenidos en circuito abierto ($T= 17-19\text{ }^{\circ}\text{C}$) de agua de mar.

El experimento comenzó tras un periodo de adaptación de aproximadamente un mes, periodo en el cual se les alimentó con cangrejo. Se ensayaron tres tipos de dietas: un pienso extrusionado a base de harina de krill, trigo, gelatina y maltodextrina, un pienso semi-húmedo diseñado por el grupo participante en la presente Jacumar de la Universidad de Santiago de Compostela y una dieta control a base de cangrejo y pescado.

Los pulpos fueron marcados inicialmente con un chip introducido entre los ojos para poder llevar un seguimiento individual. Una vez adaptados a la instalación, se distribuyeron en tres tanques (Fotografías 13, 14 y 15), separados cada uno de ellos en tres compartimentos, donde se pusieron 6 pulpos, de manera que cada 18 pulpos fueron alimentados con la misma dieta. Dentro de cada dieta, seis pulpos se clasificaron como pequeños, seis como medianos y seis como grandes, para evitar problemas de jerarquía entre ellos.



Fotografía 13. Tanques utilizados en las instalaciones del IRTA.



Fotografía 14. Detalle de la salida del agua de los tanques.



Fotografía 15. Detalle de los escondites para los pulpos en el interior de los tanques.

La alimentación se realizó dos veces al día, a las 9 y a las 14 horas, mientras que la recogida de los restos de alimento se realizaba diariamente por la tarde. Las tasas de alimentación fueron de un 4% en el

caso de los pulpos que comían el alimento natural cuando este consistía en pescado, de un 10% si era cangrejo, y de un 1% con las dietas seca y semi-húmeda.

Los muestreos de peso se realizaron cada 15 días, pesando de forma individual cada uno de los pulpos de los tres tratamientos. Para ello, se sacaban los seis pulpos de cada compartimento, se introducían individualmente en una malla, se le leía el chip con un lector (Fotografía 16) y se pesaba, posteriormente se devolvían a su tanque. La prueba tuvo una duración de 45 días.



Fotografía 16. Lectura del chip en el momento del muestreo.

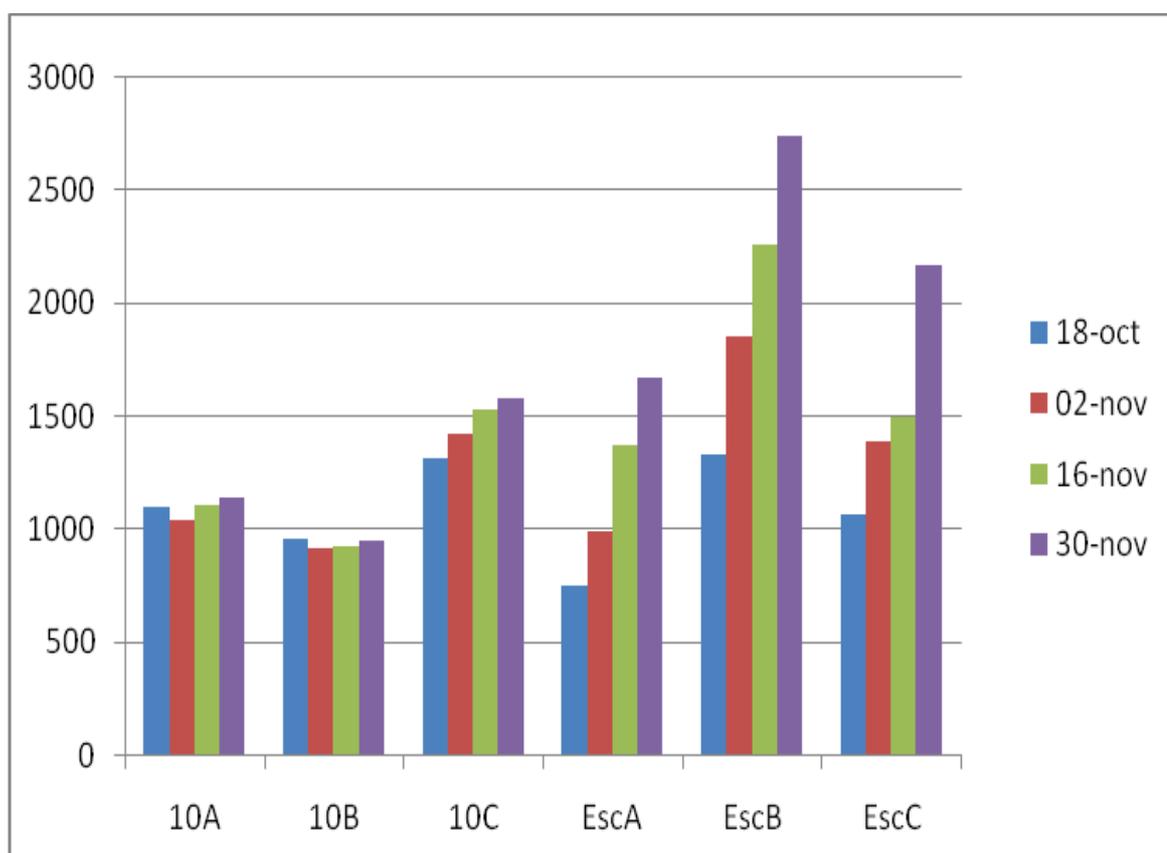


Fotografía 17. Dinamómetro electrónico utilizado para el pesaje.

Resultados

Los resultados de crecimiento pueden verse en la Figura 6, donde 10 A, B y C, corresponden a los tres tanques donde se encontraban los pulpos alimentados con el pienso extrusionado (10B: tamaño inicial pequeño; 10A: tamaño inicial mediano y 10C: tamaño inicial grande) y Esc A, B y C a los del alimento natural (Esc A: tamaño inicial pequeño; Esc C: tamaño inicial mediano y Esc B: tamaño inicial grande).

Como se observa en la figura, sólo los pulpos de tamaño inicial grande alimentados con el pienso extrusionado aumentaron de peso en los primeros quince días (una media de 110g). Habría que resaltar el hecho de que los pulpos que consumían el pienso extrusionado estuvieran la primera semana de la prueba sin comer debido a la adaptación al pienso, mientras que el resto empezó a comer el primer día. A partir de este muestreo ya se obtiene un ligero aumento de peso con los pulpos de tamaño mediano y el pienso extrusionado, de manera que al final de la prueba, estos pulpos engordaron unos 50g. En el caso de los pulpos de mayor tamaño inicial, engordaron al final, una media de 270g. Sin embargo los ejemplares de menor tamaño inicial se quedaron con el mismo peso.



Tanque 10 seco valencia: Corresponde a los pulpos alimentados con el pienso extrusionado fabricado en Valencia.

Tanque ESC dieta fresca: Corresponde a los pulpos alimentados con alimento natural.

Figura 6. Evolución del peso medio de los tres tamaños de pulpo en función de la dieta.

El mayor crecimiento que se obtiene con los pulpos alimentados con la dieta natural, es muy similar a otros estudios realizados con esta especie en condiciones similares. Obviamente las diferencias son grandes entre ambas dietas, pero lo realmente importante es el hecho de que los pulpos crezcan con una dieta extrusionada (unos 7g diarios), ya que hasta el momento es la primera vez que se consigue.

Los índices nutritivos se muestran en la Tabla 28, donde se observa una mayor tasa de crecimiento (TCI) para el alimento natural, pero un mejor índice de conversión para el pienso seco.

Tabla 28: Parámetros nutritivos de los pulpos alimentados con las dos dietas

	Alimento natural	Pienso seco
TCI (%/día)	0,26	1,77
Índice Conversión	1,51	5,19

En la composición del músculo del pulpo (Tabla 29) se pueden observar unos valores muy similares en cuanto a materia seca, rondando un 18%, al igual que en la proteína bruta, aunque en este caso los pulpos alimentados con el pienso seco poseen un nivel ligeramente inferior. Si se aprecian más diferencias en cuanto a la cantidad de grasa del músculo, siendo esta la mitad en los pulpos alimentados con la dieta natural respecto a la otra dos dieta.

Tabla 29: Datos de la composición del músculo de los pulpos alimentados con las dos dietas

	Alimento natural	Pienso seco
Materia seca (%)	18.42	18.49
P.B (%ms)	79.18	76.45
G.B (%ms)	0.48	1.11
Cenizas (%ms)	12.5	11.0

Respecto a la composición de la glándula digestiva (Tabla 30), sí se observan mayores diferencias en cuanto al tipo de dieta utilizado. Así, la glándula digestiva de los pulpos alimentados con la dieta seca contiene una menor cantidad de materia seca y de grasa, y una mayor proporción de cenizas respecto a la otra.

Tabla 30: Datos de la composición de la glándula digestiva de los pulpos alimentados con las dos dietas

	Alimento natural	Pienso seco
Materia seca (%)	31.28	23.22
P.B (%ms)	61.1	61.3
G.B (%ms)	3.49	1.13
Cenizas (%ms)	4.9	9.6

2.5.3.2. Ensayo 2. Instalaciones Universidad politécnica de Valencia

Material y Métodos

Ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados sin causarles estrés, mediante trampas en las aguas de Cases d'Alcanar, cerca de Tarragona y trasladados a las instalaciones del Instituto de Ciencia y tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, donde fueron transferidos a tanques de fibra de vidrio de 1750 l, por parejas. (Fotografía 18). El volumen de agua fue disminuido, para evitar fugas de los animales, a unos 400 litros. Se mantuvieron en circuito cerrado (T= 17°C).

De los 14 tanques del sistema, 5 consumieron los dos piensos extrusionados (por lo tanto 10 pulpos por dieta) y cuatro el alimento natural (ocho pulpos).



Fotografía 18. Tanques utilizados para la prueba de engorde

El experimento comenzó tras un periodo de adaptación de aproximadamente 6 días, periodo en el cual se les alimentó con pescadilla. Durante 6 semanas se ensayarán 3 tipos de dietas: dos piensos extrusionados a base de harina de pescado, krill, calamar, mejillón, trigo, gelatina y dos aglomerantes (goma xantana y garrofin al 25%, piensos Tabla 27) y una dieta control a base de pescadilla.



Fotografía 19: Pesaje inicial de los pulpos.



Fotografía 20: Detalle del interior de los tanques donde se realizó la prueba.

Tras ser estabulados se realizó un pesaje inicial de los 28 animales (Fotografía 19), donde se obtuvo un peso medio de 720 gramos (8 pulpos se alimentaron con pescado congelado y 10 con cada una de las dietas artificiales). A partir de este momento, comenzaron a ser alimentados con las dietas preparadas al efecto, suministrándose el alimento en dos tomas diarias, una a primera hora, sobre las 9.30 horas, y otra hacia las 14.00 horas del medio día. Los pellets del pienso median 3 cm de longitud y 1 cm de diámetro, aproximadamente.

Los restos de la dieta no ingeridos por el animal, se retiraban transcurridas 24 horas y se pesaban para poder comparar sus pesos con los pesos que presentaban inicialmente. Se calculó la cantidad de humedad que absorbía el pienso, a fin de restárselo a los restos recogidos de cada toma.

Se realizaron mediciones periódicas de temperatura, salinidad y pH, así como de amonio, nitritos y nitratos, los cuales se mantuvieron constantes y en niveles aceptables.

Resultados y Discusión

En la tabla 31 se muestran los pesos y la supervivencia de cada tratamiento durante los 15 días que duró la prueba.

Tabla 31: Parámetros de crecimiento y supervivencia obtenidos con los pulpos alimentados con las diferentes dietas.

DIETA	Peso (g) 3/11/10	Peso (g) 17/11/10	Ganancia de peso (g)	Supervivencia (%)
X25	818,9	822	3,1	60
G25	699,6	667,5	-32,1	60
<i>Alimento natural</i>	840,1	867,3	27,2	75

Transcurridas dos semanas de experimento, comenzó a haber bajas en la prueba, de hecho se obtuvieron unas mortalidades de un 40% en el caso de las dos dietas artificiales, y un 25 % en los animales alimentados con alimento natural (pescadilla). Por lo que se decidió parar la prueba, ya que el número de pulpos era insuficiente como para obtener una prueba con requisitos para publicar.

Algunos de los pulpos que sobrevivieron durante este periodo aumentaron de peso, pulpos alimentados con los tres tratamientos, aunque sí habría que tener en cuenta que el mayor número de pulpos con un aumento de peso fue de los que se alimentaron con alimento natural.

A pesar de las mortalidades, la aceptación de las dietas artificiales fue buena, debido a la textura más gomosa del pienso, conseguida por medio de gomas aglutinantes, y el hecho de que algunos de los pulpos alimentados con estos tratamientos (sobre todo con la dieta X25) crecieron y con una ganancia de peso similar a la de los alimentados con alimento natural, nos lleva a concluir que estas dietas podrían ser un buen inicio (al igual que la dieta a base de krill utilizada en la anterior prueba de engorde) para posteriores ensayos de crecimiento.

Probablemente, el principal problema de todas estas pruebas sea el hecho de que el pulpo no pueda producirse en un circuito cerrado de agua de mar, por lo que se tiene previsto la realización de otras pruebas de optimización de engorde en las instalaciones del IMIDA de Murcia y del IRTA de Tarragona, por la facilidad de la cría del pulpo en las mismas, ya que en ambas cuentan con un circuito abierto de agua de mar.

2.5.4. Optimización del engorde con piensos extrusionados.

UPV (Valencia). Colabora IMIDA (Murcia).

Siguiendo con el trabajo realizado el año anterior, y dada la buena aceptación que tuvieron los piensos extrusionados probados durante el 2010, el objetivo durante este año, fue mejorar la aceptación del pienso, así como lograr un aumento de las ingestas. Para este fin se probaron nuevos aglomerantes, como la gelatina, y nuevos saborizantes, como la yema de huevo, la cual se ha mostrado en recientes investigaciones como un atrayente de gran poder.

En primer lugar, y tras probar la estabilidad de las dietas extrusionadas, se llevaron a cabo pruebas de aceptación individual en las instalaciones de San Pedro del Pinatar (Murcia), con el objetivo de descartar directamente aquellas dietas que tuvieran una baja aceptación por parte del pulpo y elegir las que este animal consumía preferiblemente, además de producirle en un periodo de 15-20 días un incremento de peso apreciable. Una vez las dietas fueron probadas de forma individual, se llevó a cabo un experimento de engorde en las instalaciones del IRTA de San Carles de la Ràpita.

2.5.4.1. Pruebas de aceptación individual: Instalaciones San Pedro del Pinatar (IMIDA)

a) Ensayo 1: dieta sintética

Material y métodos

El presente experimento se realizó en las instalaciones del IMIDA, en las Salinas de San Pedro del Pinatar (Murcia).

La prueba comenzó con 15 pulpos pescados en las costas de San Pedro del Pinatar (Murcia), 8 fueron alojados en tanques troncocónicos de fibra de vidrio de 93 litros, con un caudal de renovación de 110 l/h y 7 pulpos fueron alojados en acuarios de 165 litros de volumen con un caudal de renovación de 450 l/h (Fotografía 24). Todos los pulpos alojados en las instalaciones del IMIDA son sexados antes de las pruebas, y sólo se seleccionan los machos. El aporte de agua era directo del mar, aunque se podía regular la temperatura mediante una bomba de calor.

Para empezar la prueba se pesaron los pulpos individualmente dos veces, para asegurar un peso más real de cada animal. Transcurridos 10 o 15 días de alimentación se volvieron a pesar para calcular el incremento de peso.

La alimentación se realizó en una sola toma a las 9 de la mañana, y se retiraban los restos del alimento no ingerido a las 4 horas (13.00h). Los restos se pesaban y anotaban, para luego calcular la ingesta real de los pulpos aplicándoles un factor de corrección a los datos que contemplara la pérdida por disgregación en agua y la ganancia de humedad.

En el presente trabajo se probaron dos dietas extrusionadas, una compuesta por yema de huevo y maltodextrina (HM) y otra compuesta por maltodextrina, yema de huevo y gelatina (MHG) (Tabla 32).

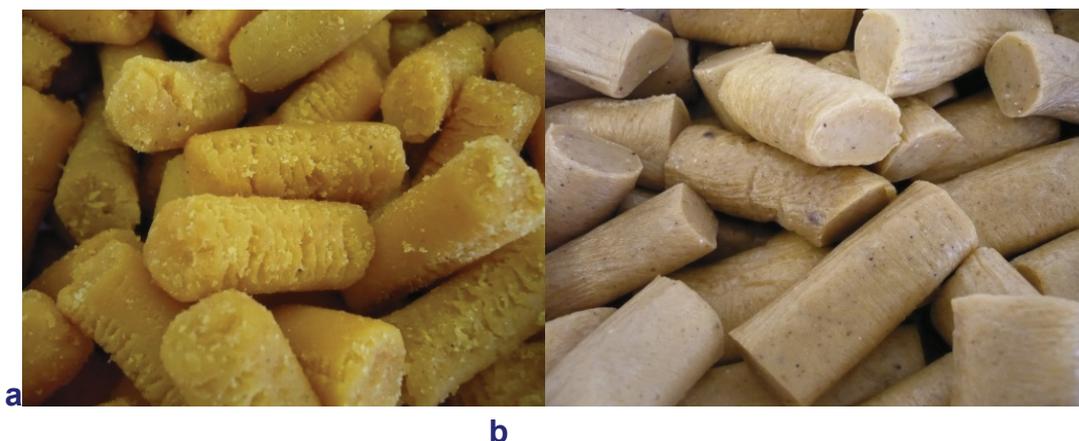
Tabla 32. Composición de las dietas experimentales (g/kg)

	GELATINA	YEMA	MALTODEXTRINA
HM	0	750	250
MHG	400	300	300



Fotografía 24. Alojamiento de los pulpos en los dos sistemas (IMIDA): Tanques troncocónicos y Acuarios.

Los piensos experimentales (Fotografía 25) utilizados en este trabajo fueron elaborados mediante un proceso de cocción-extrusión en la Fábrica de Piensos del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia. Para ello se empleó un extruder semi-industrial de la casa *Clextral* modelo BC45.



Fotografía 25. Piensos experimentales: a) HM y b) MHG

Resultados

La ingesta de ambos piensos se ve representada en la Figura 7, donde se muestra que el pienso HM tuvo un consumo más errático. Los pulpos no comieron de forma regular, pero tuvieron unas ingestas puntuales más elevadas que los otros pulpos en estudio, aunque no les reportó un mayor crecimiento.

El pienso MHG muestra un consumo más uniforme, con un pico de ingesta hacia la mitad del experimento. La ecuación de la recta nos muestra que el consumo tiende a ir descendiendo conforme avanza el tiempo de alimentación.

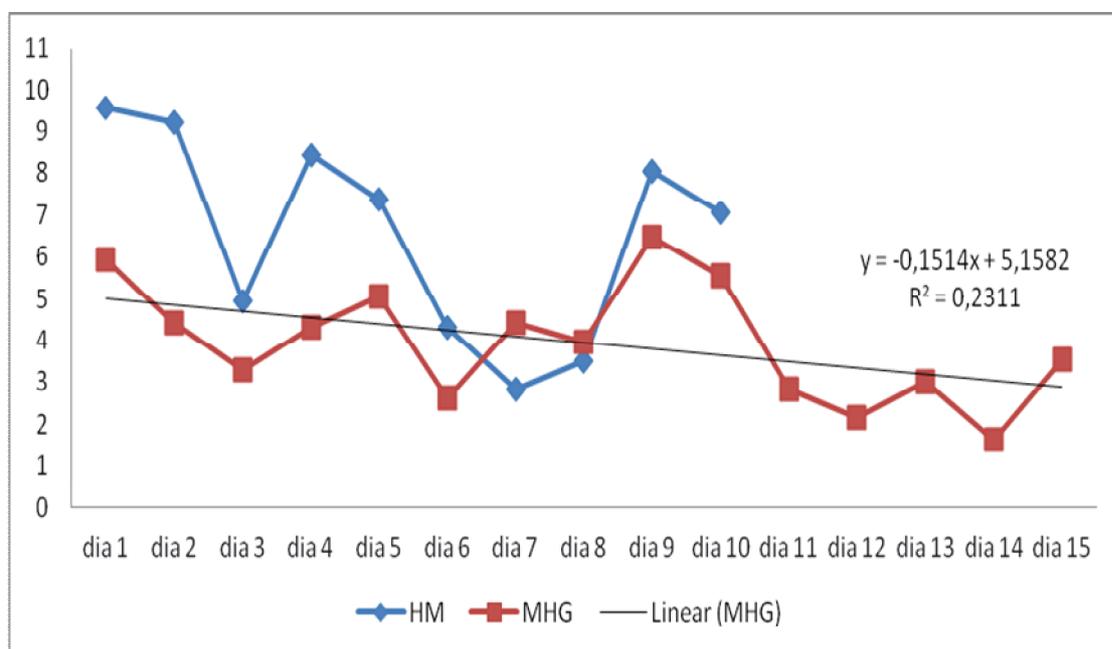


Figura 7. Evolución de las ingestas. (g/día)

En la Tabla 33 comparan los índices de crecimiento obtenidos por las dos dietas en experimentación.

Tabla 33. Análisis de índices de crecimiento (HM n =6 / MHG n = 4)

	HM	MHG	P-VALUE
IP (g)	33.58 ± 5.39	50.25± 6.61	0.0867
TAA(g/día)	6.52 ^b ± 0.39	3.94 ^a ± 0.48	0.0033
TAR(%P/día)	1.05 ^b ± 0.06	0.67 ^a ± 0.07	0.0045
TCA (g/día)	3.36 ± 0.46	3.35 ± 0.56	0.9911
TEC(%P/día)	0.52 ± 0.05	0.57 ± 0.07	0.5712
IEA (%)	50.74 ^a ± 5.92	83.9 ^b ± 7.25	0.0076
IC	2.15 ^b ± 0.25	1.22 ^a ± 0.31	0.0498

IP = Peso final- Peso inicial, **TAA** = Alimento consumido / nº días, **TAR** = (TAA / Peso medio) x 100, **TCA** = IP/ nº días, **TEC** = ((ln Peso final – ln Peso inicial) / nº días) x 100, **IEA** = (IP/ Alimento consumido) x 100, **IC**= Alimento consumido / IP

La supervivencia de ambas dietas fue muy alta, en el caso de los pulpos alimentados con el pienso MHG, fue del 87%, y de 100% en los pulpos alimentados con el pienso HM.

Se puede ver como ambos piensos muestran un TCA idéntico, por lo tanto crecen al día lo mismo los pulpos alimentados con ambos piensos, pero los pulpos que comieron el piensos MHG comieron menos, 3.94g frente a 6.52g. Por ello vemos como el índice de conversión sale mejor siendo de 1.22 frente a 2.15 y el índice de eficacia alimentaria (IEA) muestra un aprovechamiento del 83.9% frente al 50.74 %.

Por lo tanto, se puede concluir que el pienso formulado con un porcentaje de gelatina, debe ser el pienso base para seguir desarrollando las dietas extrusionadas, debido a que muestra mejores resultados, tanto en aceptación e ingesta, como en los índices de alimentación calculados.

b) Ensayo 2: dieta completa

Material y métodos

La prueba fue llevada a cabo nuevamente en las instalaciones del IMIDA en San Pedro del Pinatar (Murcia). Comenzó con 23 pulpos pescados en las costas de esta localidad, 14 fueron alojados en tanques troncocónicos de fibra de vidrio de 93 litros (Fotografía 26), con un caudal de renovación de 110 l/h, 7 de los cuales fueron alimentados con una dieta base (la que mejores resultados nos había dado en la Prueba 1), a la cual se le añadió harina de krill y 7 con la misma dieta que contenía como nuevo ingrediente harina de pescado.

En los acuarios de 165 litros de volumen (Fotografía 27), fueron alojados 8 pulpos con un caudal de renovación de 450l/h. y recibieron la dieta base con adición, en este caso, de ambas materias primas, harina de krill y harina de pescado.



Fotografía 26. Sistema de Tanques troncocónicos



Fotografía 27. Sistema de acuarios

El aporte de agua era directo del mar, aunque se podía regular la temperatura mediante una bomba de calor.

Para empezar la prueba se pesaron los pulpos individualmente dos veces, para asegurar un peso más real de cada animal. Transcurridos 10 o 15 días de alimentación se volvieron a pesar para calcular el incremento de peso. La alimentación se realizó en una sola toma a las 9 de la mañana, y se retiraron los restos del alimento no ingerido a las 4 horas, sobre las 13.00h. Los restos se pesaron y anotaron, para luego calcular la ingesta real de los pulpos aplicándoles un factor de corrección a los datos que contemplara la pérdida por disgregación en agua y la ganancia de humedad.

Así, se probaron tres dietas extrusionadas, compuestas por gelatina, yema de huevo y maltodextrina como base, y incluyendo en cada una de ellas distintas proporciones, de harina de pescado y krill (Tabla 34). Las tres dietas en estudio fueron suplementadas con 20g de taurina por cada kilo de pienso, que promueve el crecimiento muscular.

Tabla 34. Composición de las dietas experimentales (g/kg)

	GELATINA	YEMA	MALTODEX.	KRILL	H. PESCADO
K	300	300	200	200	0
P	300	300	200	0	200
KP	300	300	200	100	100

Los piensos experimentales utilizados en este trabajo (Fotografía 28) fueron elaborados mediante un proceso de cocción-extrusión en la Fábrica de Piensos del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia. Para ello se empleó un extruder semi-industrial de la casa *Clextral* modelo BC45.



Fotografía 28. Piensos extrusionados a) MHGP, b) MHGK y c) MHGKP

En la Tabla 35 muestra el análisis nutricional de las dietas en estudio, donde se observa como característica principal, el alto contenido de todas ellas en proteína, ya que el pulpo es en su mayoría músculo y tiene una alta demanda de dicho macronutriente.

Tabla 35. Análisis nutricional de las dietas experimentales (%)

	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEINA	GRASA	CH
K	17,1	2,4	46	13,7	20,8
P	15,2	3,7	49	13	19
KP	20,7	3,2	47,7	12,9	15,4

Resultados

El pienso KP mostró una menor disgregación en agua, del 0% a las cuatro horas, frente al 4% en la dieta P.

La supervivencia en el caso del pienso con krill y harina de pescado fue del 100%, mientras que en la dieta que contenía únicamente harina de krill fue del 85.7% y la dieta con de harina de pescado fue de

71.4%. Hay que destacar que la menor supervivencia de los pulpos alimentados con la dieta P, se debió a fugas durante los fines de semana, que casualmente se produjeron en mayor número en este tratamiento.

Las ingestas obtenidas en este experimento, se muestran en la Figura 8. Se observa, como las ingestas siguen siendo compensatorias, si un día comen mucho al siguiente comen poco. La ingesta en los tres tratamientos tuvo una evolución similar, con grandes picos a lo largo del periodo experimental. Aunque en los pulpos alimentados con la dieta que contenía harina de krill, se ve como la disminución en la ingesta comienza antes que en los otros dos tratamientos, a partir del 7º día hasta el día 12 que vuelve a remontar, este comportamiento se ha asociado a un cierto “aburrimiento” por parte del animal al tratarse siempre del mismo sabor, lo cual se observa también en los otros tratamientos, pero más tarde, a partir del 10º día.

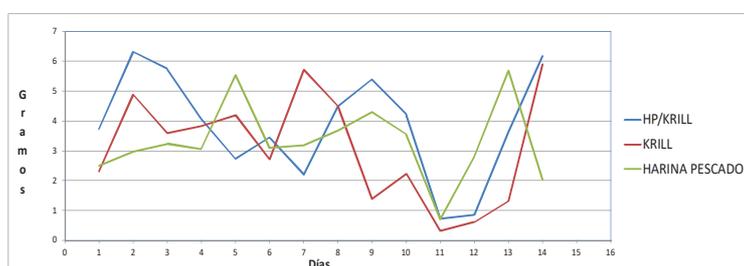


Figura 8. Evolución de las ingestas (g/día) con las tres dietas

En la Tabla 36 se comparan los índices de crecimiento obtenidos por las tres dietas en experimentación, los cuales no presentaron diferencias significativas.

Tabla 36. Análisis comparativo de índices de crecimiento con las dietas de krill y harina de pescado (MHGP n=5 / MHGK n=3 / MHGKP n=7)

	K	P	KP	P-valor
IP (g)	52.33±20.53	50.9±15.90	59.0±13.44	0.9182
TAA(g/día)	3.10±0.51	3.30±0.39	3.84±0.33	0.4172
TAR(%P/día)	0.58±0.06	0.54±0.04	0.62±0.04	0.4167
TCA (g/día)	3.74±1.46	3.63±1.13	4.21±0.96	0.9184
TEC(%P/día)	0.67±0.18	0.52±0.14	0.66±0.12	0.7312
IEA (%)	116.42±30.72	101.132±23.80	106.029±20.11	0.9256
IC	0.95±0.42	1.38±0.33	1.17±0.27	0.7185

IP = Peso fina l- Peso inicial, TAA = Alimento consumido / nº días, TAR = (TAA / Peso medio) x 100, TCA = IP/ nº días, TEC = ((ln Peso final – ln Peso inicial) / nº días) x 100, IEA = (IP/ Alimento consumido) x 100, IC= Alimento consumido / IP

Los índices de crecimiento mostraron incrementos de peso individual en las dietas con harina de pescado (P), y de harina de pescado con harina de krill (KP), superiores a 100, y por término medio en las tres dietas los incrementos de peso fueron buenos, superiores a 50 gramos. Los índices de conversión oscilaron entre 0.95 y 1.38.

Los piensos formulados tan solo con krill, tuvieron una ligera peor aceptación, y el formulado con harina de pescado con harina de krill, mostró un mejor índice de crecimiento, lo que nos hace pensar que con la correcta mezcla de los dos compuestos proteicos, se podrían conseguir crecimientos aún mayores.

2.5.4.2. Pruebas de engorde colectivo: dieta completa mejorada

Dados los buenos resultados obtenidos con el pienso que combinaba harina de pescado y krill, probado en las instalaciones del IMIDA en Murcia, se plantea la siguiente prueba con dos variantes de este pienso. Uno tendrá la misma cantidad de harina de pescado y de krill, y el otro tendrá, 3 veces más de harina de pescado que de krill.

Material y métodos

Ejemplares de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) fueron capturados con arte de arrastre en San Carlos de la Rápita y transportados trasladados a las instalaciones del IRTA (San Carlos de la Rápita), donde fueron alojados en tanques y mantenidos en circuito abierto (T= 19° C) de agua de mar.

El experimento comenzó tras un periodo de adaptación de aproximadamente un mes, periodo en el cual se les alimentó con cangrejo. Se ensayaron tres tipos de dietas: dos piensos extrusionados con distintas proporciones de krill y harina de pescado, además de contener huevina y gelatina, y una dieta control a base de cangrejo y pescado (Tabla 37).

Tabla 37. Composición Dietas experimentales

	GELATINA	MALTODEXTRINA	HUEVINA	H. PESCADO	KRILL
HPK	30%	20%	30%	10%	10%
3HPK	20%	10%	30%	30%	10%

Una vez adaptados a la instalación, se distribuyeron en tres tanques (Fotografía 29), separados cada uno de ellos en seis compartimentos, donde se pusieron 6 pulpos.



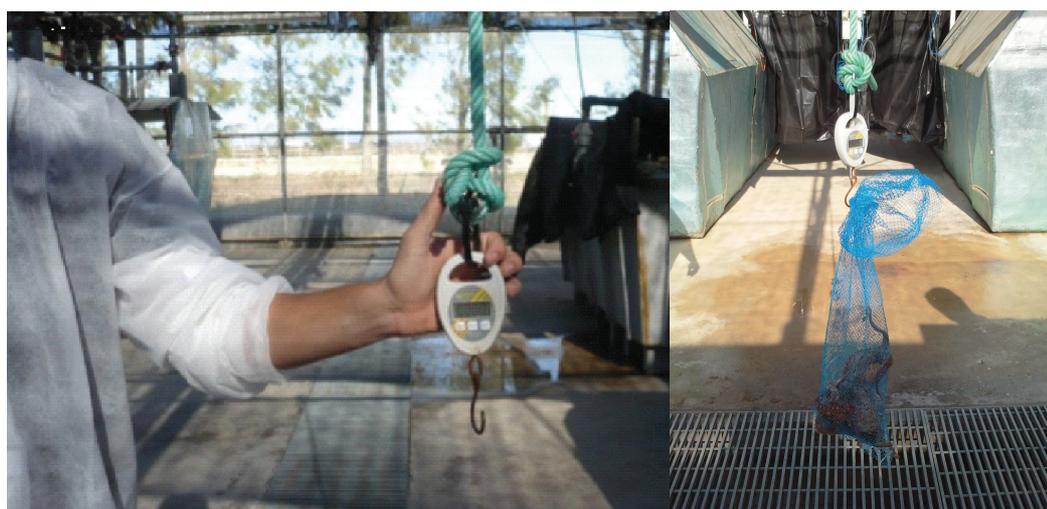
Fotografía 29. Tanques tabicados en 6 compartimentos (IRTA)

La alimentación se realizó una vez al día, a las 9 y a las 14 horas se recogía de los restos de alimento no consumido, para poder realizarse el cálculo de las ingestas. Las tasas de alimentación fueron de un 4% en el caso de los pulpos que comían el alimento natural cuando este consistía en pescado, de un 10% si era cangrejo, y de un 1% con las dietas secas.



Fotografía 30. Detalle de los escondites para los pulpos en el interior de los tanques.

Los muestreos de peso se realizaron cada 15 días, pesando de forma individual cada uno de los pulpos de los tres tratamientos. Para ello, se sacaban los seis pulpos de cada compartimento, se introducían individualmente en una malla, posteriormente se devolvían a su tanque.



Fotografía 31. Muestreo y pesaje.

La prueba concluyó a las 6 semanas, dado el aumento de la temperatura del agua, se aproximaba a los 24°C, demasiado alta para el cultivo del pulpo, ya que llegando a esta temperatura, su ingesta disminuye hasta casi ser nula.

Resultados

Tras las 6 semanas de experimento se obtuvieron crecimientos significativos con las dos dietas experimentales, crecimientos que son mayores de los obtenidos hasta ahora con piensos extrusionados, aunque distan de los crecimientos que se pueden obtener con alimento natural como muestra la Figura 9.

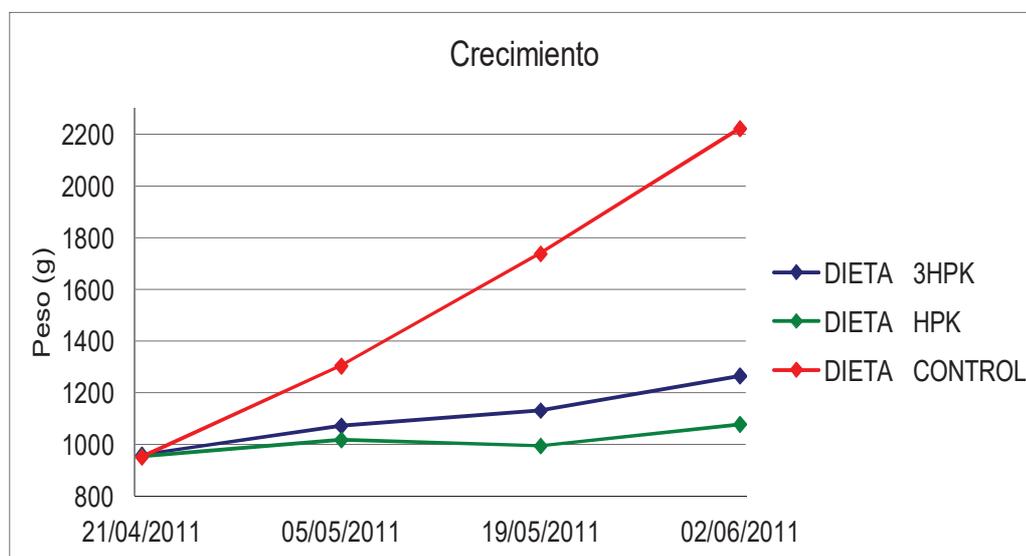


Figura 9. Evolución del peso medio de los pulpos

Como se observa en la figura anterior los pulpos alimentados con el pienso 3HPK obtuvieron un aumento de peso en torno a los 290 gramos, mientras que el HPK obtuvo crecimientos del orden de 160 gramos. Ambas dietas muestran comportamientos similares de aceptación, con una disminución de la ingesta y por tanto del crecimiento a partir de la primera quincena. Este comportamiento ya se ha observado en pruebas anteriores.

Los índices de crecimiento mostraron incrementos de peso y tasas de crecimiento inferiores con las dietas con la proporción 1:1 harina de pescado-krill (HPK), y 3:1 harina de pescado y krill (3HPK), que con la alimentación natural (Tabla 38). Sin embargo si tenemos en cuenta los parámetros de eficiencia nutritiva, tanto las tasas de alimentación como la conversión del alimento, fueron significativamente mejores con las dietas extrusionadas que con el alimento natural.

Tabla 38. Análisis comparativo de índices entre los pulpos
(HPK n =5 / 3HPK n = 4 / NATURAL n=5)

	HPK	3HPK	NATURAL	P-VALUE
IP (g)	158 ^a ± 65.1	296 ^a ± 72.79	1258 ^b ± 65.11	0.0000
TAA(g/día)	7.33 ^a ± 3.06	8.18 ^a ± 3.43	144.58 ^b ± 3.06	0.0000
TAR(%P/día)	0.73 ^a ± 0.08	0.72 ^a ± 0.09	9.07 ^b ± 0.08	0.0000
TCA (g/día)	3.22 ^a ± 1.32	6.04 ^a ± 1.48	25.67 ^b ± 1.33	0.0000
TEC(%P/día)	0.32 ^a ± 0.08	0.54 ^a ± 0.09	1.7 ^b ± 0.08	0.0000
IEA (%)	43.10 ^a ± 8.75	79.03 ^b ± 9.79	17.67 ^a ± 8.75	0.0024
IC	2.64 ^a ± 0.42	1.46 ^a ± 0.47	5.73 ^b ± 0.42	0.0001

Al analizar de forma separada las dos dietas extrusionadas, los valores de IP y TCA fueron significativamente mayores con la dieta que contenía una mayor proporción de harina de pescado, la 3HPK. De igual forma ocurrió con los parámetros de eficiencia nutritiva, aunque en este caso sin diferencias significativas entre dietas.

En cuanto a los análisis realizados a los pulpos tras la prueba de crecimiento los resultados de músculo se presentan en la Tabla 39 y los de la glándula digestiva en la Tabla 40.

Tabla 39. Composición nutricional del músculo en fresco. (HPK n=5 / 3HPK n=2)

	Inicial	HPK	3HPK	P-VALUE
Humedad(%)	81.40	84.10 ± 1.04	85.6 ± 1.65	0.4802
Proteína (%)	15.71	12.65 ± 0.96	10.8 4± .53	0.3634
Lípidos (%)	0.14	0.31 ^b ± 0.02	0.22 ^a ± 0.02	0.0361
Cenizas(%)	2.20	1.45 ± 1.06	1.67 ± 1.06	0.4773

Se puede observar como los aportes de proteína al músculo por ambas dietas son muy similares, y en cuanto a los lípidos, observamos una diferencia significativa entre tratamientos, siendo algo mayor en el caso de la dieta HPK.

**Tabla 40. Composición nutricional de la glándula digestiva en fresco.
(HPK n=5/ 3HPK n=2)**

	Inicial	HPK	3HPK	P-VALUE
Humedad(%)	70.26	59.99 ^b ± 0.41	57.5 ^a ± 0.65	0.0242
Proteína (%)	18.74	15.57 ± 0.64	14.93 ± 1.02	0.6184
Lípidos (%)	2.09	5.61 ± 0.73	4.61 ± 1.16	0.5016
Cenizas(%)	2.20	1.43 ± 0.13	1.69 ± 0.20	0.3499

En cuanto a la glándula digestiva no se obtuvieron diferencias estadísticas entre tratamientos.

La presente prueba ha mostrado el buen resultado que están dando los nuevos piensos extrusionados, con las modificaciones en cuanto a textura y sabor del mismo, lo cual lo hace mucho mas apetecible para el animal, proporcionando unas ingestas mayores, y mejores crecimientos, sin alterar la composición nutricional del pulpo.

3. Subproyecto 2: Optimización de las técnicas de engorde en tanques y jaulas.

3.1. Ensayos con dietas naturales y piensos semihúmedos.

3.1.1. Boga de descarte procedente del engorde de dorada en jaulas flotantes.

ICCM, C.A. de Canarias.

La acuicultura marina en jaulas flotantes es una actividad floreciente en las Islas Canarias donde operan hasta 15 empresas de engorde de dorada y lubina principalmente (Vergara Martín *et al.*, 2005). Dichas empresas generan un subproducto a modo de especies invasivas que aparece en los despesques. Dichas especies tiene un bajo o nulo valor comercial, generando pérdidas al sector ya que se alimentan fundamentalmente de pienso.

Entre las causas de la aparición de especies invasivas en las jaulas destaca la entrada a través de la malla de especies más pequeñas o a través de pequeñas roturas que se producen eventualmente en la malla de las jaulas. Además cabe mencionar que las jaulas de dorada son más propensas a presentar mayor número de especies invasivas en comparación con las jaulas de lubina, especie menos tolerante con los intrusos ocasionales (Guirao R. com. Pers.).

Entre los descarte cabe mencionar individuos deformes, bogas (*Boops boops* L. 1758), lebranchos (*Mugil cephalus* L., 1758), salemas (*Sarpa salpa* L. 1758) y sardinas (*Sardina pilchardus* Walbaum 1792). El más numeroso de los descartes es la boga, que además presenta una gran diferencia bioquímica de la especie salvaje, siendo una buena fuente de lípidos de alta calidad. Se realizó un seguimiento de los descartes de una empresa, dedicada al engorde en jaulas de dorada y lubina (Fig. 1).

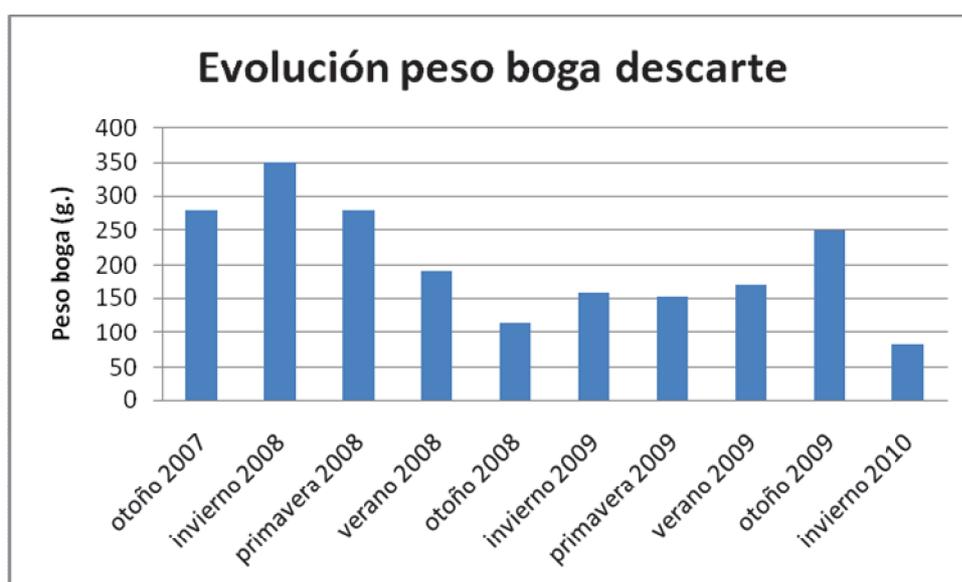


Fig. 1: Seguimiento del peso de la boga de descarte en la empresa (Las Palmas)

En general la boga representa del 2 al 5% de la biomasa obtenida, siendo dicho valor superior al 90% de los descartes. El tamaño es muy variable dentro de cada período de estudio y depende fundamentalmente de la época de cultivo de la empresa.

El tamaño de las diferentes bogas capturadas, influye directamente en la composición bioquímica de las mismas, ocasionado por el tiempo de engorde en jaula, y por la voracidad de los individuos mayores, condicionando enormemente la elaboración de piensos para el engorde de pulpo. Asimismo se realizó un seguimiento cuantitativo de la composición bioquímica de esta especie a lo largo del año (tabla 1).

Tabla 1: Macronutrientes (%) en peso seco de la boga de descarte (*Boops boops*) analizada durante el período 2007-2009

	Lípidos PS (%)	Proteínas PS (%)	Humedad (%)	Cenizas (%)
Otoño 2007	13.9 ± 1.7	76.6 ± 3.0	74.3 ± 1.4	1.3 ± 0.1
Invierno 2008	57.0 ± 4.8	29.7 ± 2.1	46.9 ± 3.6	1.0 ± 0.1
Primavera 2008*	22.2±6.8	77.4±6.7	72.9±2.0	1.1±0.2
Verano 2008	45.6 ± 2.6	50.2 ± 2.0	64.6 ± 0.5	1.4 ± 0.3
Primavera 2009	41,1 ± 2.7	42.0 ± 8.5	64.9 ± 3.2	2.1 ± 0.1
Verano 2009	50.9 ± 1.0	40.5 ± 0.6	59.8 ± 0.7	1.4 ± 0.5

*Análisis de filete de boga de descarte

3.1.2. Utilización de presas alternativas, cangrejo de río (*Procambarus clarkii*) y merluza (*Merluccius gayi*) para el cultivo del pulpo *Octopus vulgaris*.

IFAPA Centro “Agua del Pino”, C.A. de Andalucía.

Introducción

Mientras no se desarrolle un pienso efectivo para el engorde de cefalópodos, las dietas naturales alternativas de bajo coste son la mejor alternativa para el cultivo de estas especies. Además, según García García *et al.*, (2004), el inevitable aumento de precios de los crustáceos usados en la alimentación del pulpo reducirá la ya de si pequeña margen de lucro en el engorde comercial del pulpo en Galicia

Diversas dietas naturales han sido usadas para engordar *O. vulgaris*, pero el crecimiento obtenido ha sido muy variable., dependiendo de las especies usadas (Aguado y Garcia Garcia, 2002; Cagnetta y sublime, 2000; Garcia Garcia y Aguado, 2002; Aguado y Garcia Garcia, 2003). Há sido con la utilización de crustaceos como monodieta (Aguado y Garcia Garcia, 2003), o la parte más importante de esta (Cagnetta y Sublimi, 1999, Tunon *et al*, 2002; Garcia Garcia y Cerezo Valverde, 2006) que se han obtenido los mejores resultados. Dietas constituidas exclusivamente por peces proporcionaron crecimientos bajos (Aguado y Garcia Garcia, 2003; Garcia Garcia y Cerezo Valverde, 2006), principalmente cuando se utilizan especies de peces con elevado contenido en lípidos.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de dos posibles dietas alternativas a los cangrejos, que normalmente proporcionan los mejores resultados de crecimiento en pulpo, que por su menor coste podrían reducir considerablemente los costes del engorde de esta especie.

Material y métodos

Los pulpos se capturaron con arrastre en aguas costeras de Huelva (sur de España), y trasladados. Antes de cada experimentos, los animales fueron aclimatados durante una semana en los tanques experimentales, siendo alimentados con calamar (*Loligo gahi*) congelado. La tasa de alimentación fue de 10% al día en peso corporal (% PC d⁻¹), en una toma diaria (09:00 h). La temperature de cultivo fue de 21±1 °C con un fotoperiodo natural entre Abril y Junio. El flujo de agua se ajusto para proporcional concentraciones de oxigeno cercanas a la saturación.

En el experimento I se pesaron los individuos cada 2 semanas, mientras en el experimento 2 estos fueron pesados cada 10 días. Para cada muestreo se determine el peso y tasas de crecimiento (TC (% PC d⁻¹) = ((lnP2-lnP1)/t) x 100, en que P1 y P2 son los pesos inicial y final, respectivamente, ln el logaritmo natural, t el número de días del experimento.

Experimento I

Se usaron 36 pulpos (6 replicados, 3 por cada dieta, con 6 pulpos cada replicado). Las dos dietas usadas fueron: 1) Calamar congelado (*Loligo gahi*) como control y, 2) cangrejo de río congelado (*Procambarus clarkii*). Se utilizaron 6 tanques de hormigon (3 x 1 m, profundidad def 1 m, con volumen total de 3000 L por tanque). El peso inicial fue de 1,5±0,5 Kg, siendo de 1,4±0,4 Kg

para los pulpos alimentados con calamar y de $1,5 \pm 0,5$ Kg, para los alimentados con cangrejo de río; no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre todos los replicados.

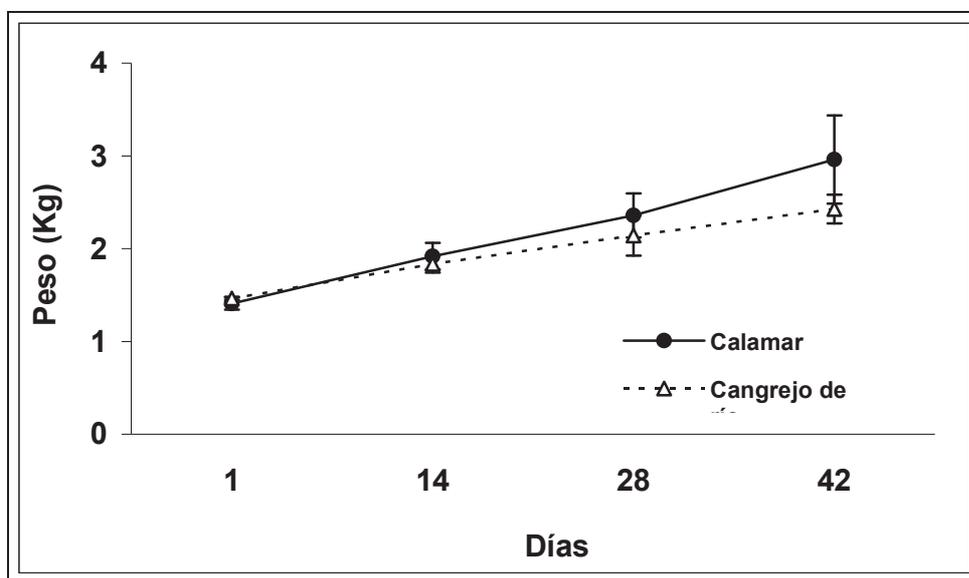
Experimento II

Se usaron 30 pulpos, distribuidos individualmente en 30 tanques cilindroconicos de 80 L cada. Octopuses were fed three diets: Las dos dietas usadas fueron: 1) Calamar congelado (*Loligo gahi*) como control y, 2) mMerluza congelada (*Merluccius gayi*) y 3) cangrejo de río congelado (*Procambarus clarkii*). El experimento duro 40 días. El peso inicial de los pulpos fue de $573,3 \pm 131,6$ g con pesos médios para los 10 pulpos alientados con calamar, cangrejo de río y merluza de $542,1 \pm 140,0$ g, $563,2 \pm 140,0$ g y $620,3 \pm 120,5$ g, respectivamente; no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre todos los replicados.

Resultados

Experimento I

No se observo mortalidad durante el experimento. El crecimiento en peso de los 36 pulpos se observa en la Figura 1. Solamente se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en peso entre los animales alimentados con calamar o cangrejo de río en el ultimo muestreo. El peso medio final fue de $3,0 \pm 0,7$ Kg y $2,4 \pm 0,6$ Kg, para los pulpos alimentados con calamar y cangrejo de río, respectivamente.

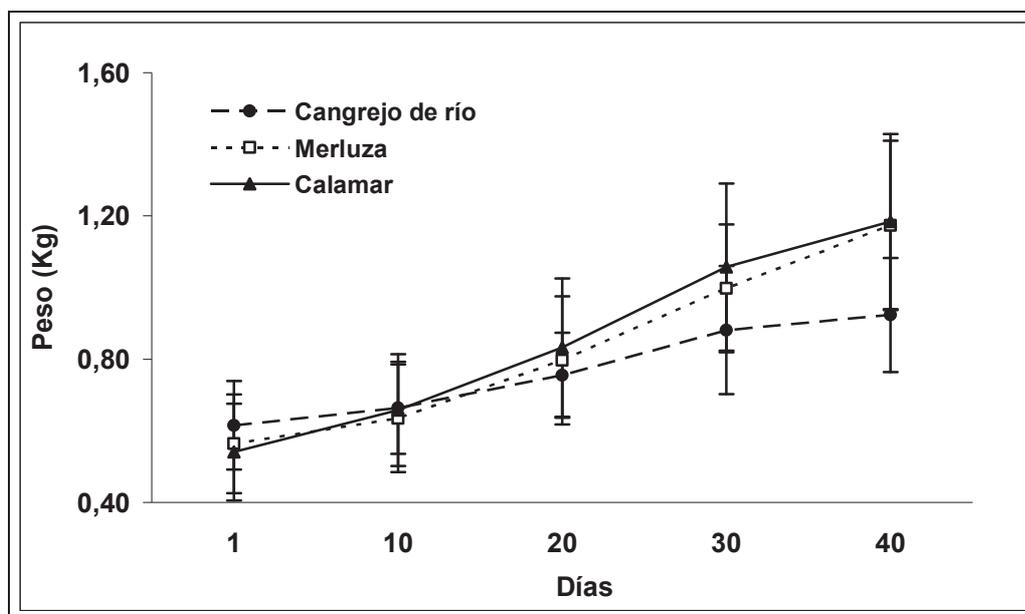


Las tasas de crecimiento fueron de $1,7 \pm 0,3$ %PC d^{-1} y $1,2 \pm 0,2$ %PC d^{-1} , respectivamente, siendo mas altas ($p < 0,05$) para los pulpos alimentados con calamar congelado

Experimento II

Durante el experimento murieron 3 pulpos alimentados con calamar y un pulpo alimentado con cada una de las restantes dos dietas. El crecimiento en peso de los 30 pulpos se puede

observar en la Figura 2. Solamente se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en peso entre los animales alimentados con cangrejo de río, respecto a las otras dos dietas, en el último muestreo. No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en crecimiento para los animales alimentados con merluza o calamar.



Las tasas de crecimiento fueron de $1,9 \pm 0,2$ %PC d^{-1} , $1,9 \pm 0,3$ %PC d^{-1} y $1,1 \pm 0,3$ %PC d^{-1} , para pulpos alimentados con calamar, merluza y cangrejo de río, respectivamente. No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) entre las tasas de crecimiento de los animales alimentados con calamar y merluza, pero estas fueron mayores ($p < 0.05$) respecto a las obtenidas en los animales alimentados con cangrejo de río.

Discusión

El cangrejo de río no puede ser considerado una presa alternativa para el engorde del pulpo, una vez que proporcione tasas de crecimiento bastante menores que el control (calamar congelado). Por otro lado, la merluza podría sustituir satisfactoriamente el calamar congelado y incluso el cangrejo en el engorde de esta especie, porque ha proporcionado tasas de crecimiento y supervivencia adecuadas para el engorde del pulpo.

Bibliografía

- Aguado-Giménez, F., García-García, B. 2003. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquaculture International* 10, 361-377.
- Aguado, F, Garcia Garcia, B 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquac. Int.* 10, 361–377.

- Cagnetta, P, Sublimi, A. 2000. Productive performance of the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) when fed on a monodiet. Recent Advances in Mediterranean Aquaculture Finfish Species Diversification. Cahiers Options Méditerranéennes 47, 331-336.
- Cagnetta, P, Sublimi, A. 1999. Productive performance of the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) when fed on a monodiet. Seminar on the Mediterranean Marine Aquaculture Finfish Species Diversification. Zaragoza, Spain, 24– 27 May.
- García García, , Cerezo Valverde, J. 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. Aquaculture 253, 502–511.
- García García, B., Cerezo Valverde, J. 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. Aquaculture 253, 502–511.

3.1.3. Experiencias de engorde con monodietas naturales de lirio (*Micromesistius poutassou*) y de mejillón (*Mytilus edulis*) y dietas mixtas con lirio, mejillón y cangrejo (*Carcinus maenas*)

CEP, C.A. de Asturias.

Introducción

En la búsqueda de un perfil de requerimientos nutricionales para el pulpo se llevó a cabo una experiencia con monodietas de alimento natural a base de lirio y de mejillón.

Material y Métodos

Análisis bioquímico.

Se determinó la composición en cuanto a macronutrientes (grasa, proteína, cenizas y humedad), perfil de aminoácidos, ácidos grasos y colesterol en los alimentos naturales utilizados en las experiencias de engorde con monodietas de lirio y mejillón. Asimismo, se procesaron los pulpos salvajes y los pulpos obtenidos al final de la experiencia de engorde, para su análisis en el IMIDA.

Procesado de las muestras del alimento: lirio (*Micromesistius poutassou*), mejillón (*Mytilus edulis*) y cangrejo (*Carcinus maenas*)

Para el análisis de las monodietas naturales se recogieron 2 lotes de muestras, en invierno y en verano (febrero y junio de 2008), de lirio (*Micromesistius poutassou*), mejillón (*Mytilus edulis*) y cangrejo (*Carcinus maenas*), que se procesaron y enviaron a los centros del IMIDA de Murcia, Universidad Politécnica de Valencia, ICCM de Canarias y Universidad de Santiago de Compostela de Galicia.

Para los peces se incluyeron filetes, gónadas y vísceras, eliminando estructuras óseas y aletas.

Con los crustáceos se vació el animal completo, incluyendo carne de las pinzas, interior del caparazón, branquias y gónadas. No se incluyó la parte esquelética porque no es ingerida.

Se anotó la fecha de captura, el número de ejemplares y peso de los individuos. Se extrajo la parte comestible de cada especie, se trituró y se homogeneizó hasta conseguir un total de 1.000g por especie, con un mínimo de 6 ejemplares por especie. Para cada determinación se llenaron dos bolsas con la misma cantidad enviándose sólo una de ellas para el análisis y guardando la réplica por si hubiera que repetir la analítica.

Procesado de muestras para el análisis de macronutrientes (Proteínas, lípidos totales, cenizas y humedad) en el IMIDA de Murcia.

Muestra **Proteínas**: 40g en fresco, congelado y envasado al vacío

Muestra **Minerales**: 100g en fresco (10-15g de muestra liofilizada.) Las muestras se envían liofilizadas en frascos de plástico.

Muestra **Clases de lípidos**: 100g en fresco, congelado y envasado al vacío.

Procesado de muestras para la determinación de Aminoácidos en la UPV de Valencia.

Muestra: 100g en fresco de cada especie, se liofilizó, se pesó y se envasó en frasco de plástico hermético. Se enviaron los valores de contenido en proteína bruta de cada muestra, analizados por el IMIDA de Murcia.

Procesado de muestras para la determinación de ácidos grasos en el ICCM de Canarias

Muestra: 20g de cada especie en fresco, triturado y homogeneizado, congelado y envasado al vacío.

Procesado de muestras para la determinación de colesterol en la USC de Galicia.

Muestra: 100g en fresco de cada especie, triturada, homogeneizada, congelada y envasada al vacío

Procesado de los pulpos salvajes y engordados con las monodietas naturales.

De cada ejemplar se separó y se pesó la glándula digestiva. El resto del pulpo se trituró, se homogeneizó y se separaron 100g. Ambas muestras (glándula digestiva y 100g del resto) de cada pulpo se envasaron al vacío y se enviaron congeladas al IMIDA, para el análisis de macronutrientes.

Estabulación

En el mes de junio se introdujeron 56 pulpos machos, en torno al kilogramo de peso, en una piscina con un volumen de 24.000 litros y compartimentada para la realización de 3 réplicas por monodieta. Se utilizaron 28 ejemplares por monodieta a una densidad de 2 pulpos/m³. Los valores de temperatura y de salinidad fueron de 16°C-20°C y 30‰-33‰, respectivamente. Los niveles de oxígeno siempre superiores al 80%.

La pauta de alimentación fue de lirio o de mejillón, dependiendo de la monodieta, 6 días a la semana. Diariamente se extraían los restos y se calculaba el alimento ingerido, descontando espinas y valvas. La experiencia se desarrolló durante 52 días, en los meses de junio y julio.

Con los datos obtenidos se calcularon los siguientes índices:

TCA = Tasa de Crecimiento Absoluto (IP / n° días);

TEC = Tasa Específica de Crecimiento ((Ln(Pf) - Ln(Pi)) * 100 / n° días);

IC = Alimento ingerido/Incremento de biomasa

Resultados y discusión

En las tablas I, II, III y IV, se muestran los resultados obtenidos en cuanto a macronutrientes, perfil de amino-ácidos, ácidos grasos y colesterol, en los distintos alimentos naturales utilizados.

Tabla I. Macronutrientes en lirio, cangrejo y mejillón analizados por el IMIDA de Murcia.

	Lirio		Cangrejo		Mejillón	
	invierno	verano	invierno	verano	invierno	verano
Grasa (%)	2,44	0,78	1,13	0,67	0,83	0,25
	2,34	0,64	1,19	1,21	0,82	0,94
	1,81	0,57	0,83	2,21	0,84	0,93
Proteína (%)	22,41	21,31	14,33	15,59	13,05	12,42
	23,08	21,79	14,30	15,36	13,13	12,96
	21,97	21,60	14,16	15,32	13,38	12,72
Cenizas (%)	2,33	1,19	8,17	4,30	2,36	2,26
	2,13	1,42	6,81	3,28	2,31	2,22
	1,69	1,41	7,84	3,61	2,41	2,24
Humedad (%)	72,18	77,07	74,05	75,79	79,82	82,45
	71,77	77,22	72,53	73,23	79,97	82,48
	72,20	74,94	74,52	75,36	79,60	82,31

Tabla II. Amino-ácidos totales en lirio, cangrejo y mejillón analizados por la UPV de Valencia.

Aminoácidos mg aac/100 g	Lirio		Cangrejo		Mejillón	
	invierno	verano	invierno	verano	invierno	verano
ASP	7438,02	8944,01	4392,18	5808,43	5090,30	5707,21
SER	3255,58	3439,74	2164,70	2647,15	2733,87	2816,68
GLU	10825,51	13501,43	6137,89	8530,70	6355,13	7507,98
GLY	3361,13	4568,87	3807,61	3217,98	5428,62	5028,34
HIS	1739,15	1481,48	1267,10	1614,09	1131,59	1005,07
NH3	1709,52	2448,10	1374,51	1732,60	1807,09	1605,49
ARG	5623,15	5342,15	6824,08	6319,95	10707,10	9929,52
THR	3661,22	3070,98	2381,02	2469,63	3082,93	2149,88
ALA	4591,07	4922,72	2572,55	2430,76	2767,86	2792,13
PRO	2579,51	3150,76	2055,27	3269,44	1899,33	2280,29
ABA	7545,85	7639,94	5251,53	5744,15	5780,64	6338,50
CYS	1582,11	1688,20	1146,19	1375,14	1639,38	1469,14
TYR	3257,82	2115,90	1828,82	1906,54	1470,25	1645,17
VAL	3658,36	3460,21	2070,45	2456,98	2260,81	1967,17
MET	2045,05	2312,59	812,16	1512,81	876,07	1095,68
LYS	6725,03	8161,27	3173,82	4584,17	3778,31	4632,88

ILE	3314,06	3447,22	1849,44	2293,53	2032,18	1977,23
LEU	6112,32	6212,25	3189,16	3795,05	3220,82	3204,58
PHE	3274,51	2891,82	1940,10	2091,15	2983,54	1681,10
Total	74,75	81,16	48,99	58,06	59,27	58,50
Esperado	76,39	81,13	53,25	58,45	58,2	63,45
Diferencia%	2,14	-0,04	8,01	0,67	-1,83	7,81

Tabla III. Ácidos grasos en lirio, cangrejo y mejillón, analizados por el ICCM de Canarias.

Ácidos grasos FAMES (%)	Febrero-2008		
	Lirio	Cangrejo	Mejillón
Total Saturados	29,59	23,55	29,13
Total Monoenoicos	32,86	31,44	27,84
Total n-3	32,10	26,76	32,06
Total n-6	4,05	11,91	6,99
Total n-9	23,69	16,21	13,47
Total n-3HUFA	30,32	22,33	26,33
14:00	2,72	0,90	2,38
16:00	20,53	13,32	19,62
16:1 n-7	4,07	6,41	6,75
18:00	4,67	6,38	4,28
18:1 n-9	21,30	13,65	8,65
18:1 n-7	4,22	3,74	2,75
18:2 n-6	1,21	1,23	1,61
18:3 n-3	0,61	0,56	1,37
20:1 n-9	2,32	1,15	1,02
ARA	1,35	5,63	3,15
EPA	7,92	11,12	14,65
DHA	21,10	8,92	10,07
DPA (22:5n-6)	0,44	0,43	0,37
DHA/22:5 n-6	47,91	20,83	27,40
EPA/ARA	5,85	1,97	4,65
ARA/EPA	0,17	0,51	0,22
DHA/EPA	2,67	0,80	0,69
DHA/ARA	15,59	1,58	3,19
oleico/DHA	1,01	1,53	0,86
oleico/n-3HUFA	0,70	0,61	0,33
n-3/n-6	7,93	2,25	4,58

Tabla IV. Colesterol en lirio, cangrejo y mejillón analizados por la USC de Galicia.

Colesterol	Lirio		Cangrejo		Mejillón	
	invierno	verano	invierno	verano	invierno	verano
mg/g	0,604	0,631	0,843	1,044	0,628	0,895
	0,602	0,219	0,795	0,952	0,573	2,114
	0,628	0,622	0,922	0,749	1,101	1,869

En la tabla V se muestran los resultados de crecimiento de los ejemplares alimentados con las monodietas naturales. Los pulpos engordados con lirio muestran valores, de incremento en peso medio y crecimiento específico, muy superiores a los obtenidos con la dieta del mejillón. Sin embargo, la mortalidad en ambos casos resultó muy similar.

Tabla V. Valores medios de engorde de pulpo con monodietas naturales.

	Mejillón	Lirio
Alim.ing.(g)	24.792	58.111
Biom. inicial (g)	28.190	31.725
Biom. final (g)	23.665	44.660
P. medio inicial	1.040,07	1.089,67
P. medio final	1.186,65	2.126,67
Incr.P.medio(g/mes)	84,53	598,23
TCA	2,8	19,9
*TEC	0,26	1,41
Mortalidad (%)	25,92	27,58

Los resultados muestran que los ejemplares alimentados con lirio presentan un incremento de peso medio de 598,23 g/mes frente a 84,53 g/mes con la dieta de mejillón y una media en crecimiento específico y tasa de crecimiento absoluto de 1,41 frente a 0,26 y 19,9 frente a 2,8 respectivamente. Así mismo, se observa que con la monodieta del mejillón la baja tasa de crecimiento no llegó a compensar las pérdidas de biomasa debido a la mortalidad.

Dieta mixta

Los pulpos sobrantes de cada una de las réplicas de cada monodieta fueron considerados como un lote y alimentados durante 30 días, con una dieta mixta a base de cangrejo, lirio y mejillón.

El lote que había sido alimentado con mejillón alcanzó una TEC y una TCA de 1,13 frente a 0,26 y de 16,1 frente a 2,8, respectivamente, lo que parece indicar que los pulpos mermados por la monodieta de mejillón son capaces de recuperar, aparentemente, el buen aspecto y acelerar el crecimiento, alcanzando un incremento en peso medio de 483g/mes.

El lote que había sido alimentado con lirio presentó una TEC y una TCA de 1,41 frente a 0,93 y 19,9 frente a 22,7, respectivamente. Los índices de conversión del alimento se mantienen similares con la monodieta y la dieta mixta.

Tabla VI. Engorde de pulpo con dieta mixta preengordados con monodieta de mejillón y lirio.

EXPERIENCIA Dieta mixta	LOTE Mejillón			LOTE Lirio		
	lirio	mejillón	cangrejo	lirio	mejillón	cangrejo
Alim.ing (g)	8.030	390	5.024	11.472	754	5.774
Biom. inicial (g)		12.420			25.705	
Biomasa final (g)		15.095			28.235	
Biom. muerta (g)		1.645			4.190	
Incr.biomasa(g)		2.675			2.530	
Peso medio inicial		1.194,5±247,1			2.142±528,6	
Peso medio final		1.677,2±462,6			2.823,5±633,2	
Incr.P.medio(g/mes)		483			681	
TCA		16,1			22,7	
TEC		1,13			0,93	
IC		3,1			2,7	
Mortalidad (%)		18,2			16,6	

Análisis bioquímicos

En las Tablas VII, VIII y IX se presentan los datos y los resultados de las analíticas realizadas con los pulpos salvajes y pulpos alimentados con monodietas naturales y dieta mixta. Se procesaron un total de 29 ejemplares, 5 al inicio y 3 por cada tipo de dieta y réplica al final de la experiencia.

Tabla VII. Datos de los pulpos analizados al inicio y final de la experiencia de engorde con monodietas de mejillón y lirio y con dieta mixta de lirio, mejillón y cangrejo.

Muestra	Fecha	Peso total (g)	Peso glánd. (g)	Peso resto (g)	Glánd.digestiva (%)
Inicio1	06.06.08	1.330	54,4	1.275,6	4,1
Inicio2	06.06.08	1.275	72,5	1.202,5	5,7
Inicio3	06.06.08	1.170	71,9	1.098,1	6,1
inicio4	06.06.08	920	33,9	886,1	3,7
inicio5	06.08.08	1.370	25,6	1.344,4	1,8
M1.1.	01.08.08	1.095	15,1	1.079,9	1,4
M1.2	01.08.08	1.135	13,2	1.121,8	1,1
M1.3	01.08.08	1.215	28,2	1.186,8	2,3
M2.1	01.08.08	1.065	18,7	1.046,3	1,7
M2.2	01.08.08	1.235	34,6	1.200,4	2,8
M2.3	01.08.08	1.300	32,6	1.267,4	2,5
M3.1	05.08.08	1.090	30,2	1.059,8	2,8
M3.2	05.08.08	1.130	16	1.114,0	1,4
M3.3	05.08.08	1.260	20,5	1.239,5	1,6

L1.1	01.08.08	2.210	43,7	2.166,3	2,0
L1.2	01.08.08	2.245	91,8	2.153,2	4,1
L1.3	01.08.08	2.575	130,3	2.444,7	5,0
L2.1	01.08.08	2.105	101,1	2.003,9	4,8
L2.2	01.08.08	2.165	90	2.075,0	4,1
L2.3	01.08.08	2.220	88,6	2.131,4	4,0
L3.1	05.08.08	1.800	94	1.706,0	5,2
L3.2	05.08.08	1.815	91,1	1.723,9	5,0
L3.3	05.08.08	1.820	82,6	1.737,4	4,5
M1MIX	01.09.08	1.950	80,5	1.869,5	4,1
M2MIX	01.09.08	2.450	120,3	2.329,7	4,9
M3MIX	01.09.08	2.135	81,3	2.053,7	3,8
L1MIX	01.09.08	2.640	85,2	2.554,8	3,2
L2MIX	01.09.08	2.955	144,8	2.810,2	4,9
L3MIX	01.09.08	3.135	39,9	3.095,1	1,3

Tabla VIII. Valores medios en % en peso de glándula digestiva con respecto al peso total del pulpo según las distintas dietas.

Muestra	Inicio (%)	Mejillón (%)	Lirio (%)	M.Mix (%)	L.Mix (%)
Promedio	4,28	1,95	4,30	4,26	3,13
Desv.típ	1,72	0,65	0,97	0,56	1,8

Tabla IX. Valores medios de humedad, grasa, proteína y cenizas en glándula digestiva (Gd) y resto (R) de los pulpos engordados con las monodietas de mejillón y lirio y dieta mixta, analizados en el IMIDA. Murcia.

GRUPO	Hum-Gd (%)	Hum-R (%)	Gra-Gd (%)	Grs-R (%)	Pro-Gd (%)	Pro-R (%)	Cen-Gd (%)	Cen-R (%)
Inicio	63,73	82,92	9,34	0,52	20,34	13,85	1,74	1,52
Mejillón	74,61	84,10	1,87	0,22	16,46	12,64	2,44	1,81
Lirio	64,63	82,54	6,78	0,20	20,91	14,42	1,45	1,89
Mej. Recup.	68,91	82,77	4,90	0,35	21,70	13,48	1,42	1,96
Lir. Recup.	72,16	82,27	5,28	0,07	17,09	13,91	1,73	2,01

Se observa, en los análisis realizados a los distintos tipos de alimentos naturales utilizados, que los mayores porcentajes de proteína y grasa se encuentran en el lirio, frente a los obtenidos en el cangrejo y el mejillón, coincidiendo con los mejores resultados de crecimiento.

Si analizamos la composición obtenida en pulpos salvajes y pulpos engordados con las distintas dietas, vemos que las mayores diferencias, en cuanto a macronutrientes, se encuentran a nivel de la glándula digestiva. Los valores en el resto del pulpo apenas cambian.

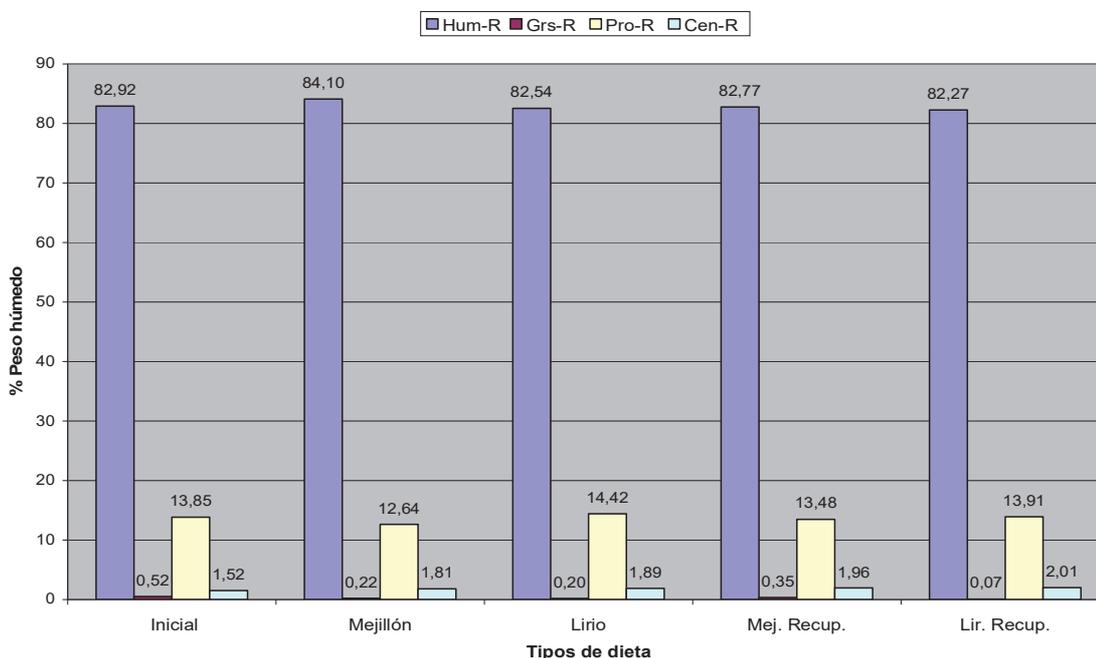


Figura 1. Valores medios de humedad, grasa, proteína y cenizas en pulpos, sin glándula digestiva, alimentados con distintas dietas naturales.

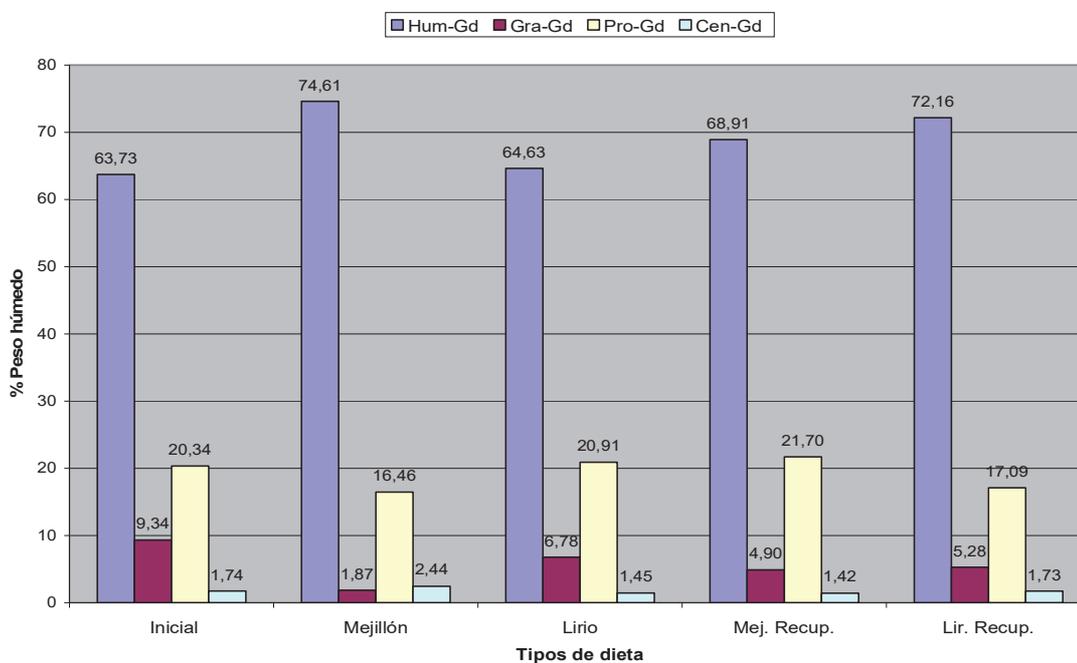


Figura 2. Valores medios de humedad, grasa, proteína y cenizas en glándula digestiva de pulpos alimentados con distintas dietas naturales.

El porcentaje en grasa, en glándula digestiva, sufre una reducción con las distintas dietas con respecto al pulpo salvaje, más acusada con la dieta de mejillón, recuperando en todos los casos con la incorporación de la dieta mixta. Este dato coincide con la reducción en peso que sufre la glándula digestiva en los pulpos alimentados con la monodieta de mejillón.(ver tabla VII). En cuanto a los valores de proteína, los mayores porcentajes se encuentran en glándula digestiva y disminuye con la monodieta de mejillón.

- Los mejores resultados de crecimiento se obtienen con la monodieta de lirio que presenta unos porcentajes de proteína y de grasa superiores al mejillón y al cangrejo.
- Los malos resultados de crecimiento con la monodieta de mejillón coincide con una reducción del porcentaje en peso de la glándula digestiva como consecuencia de una disminución del porcentaje en grasa y, en menor medida, en proteína con respecto a los pulpos salvajes.
- A su vez, la reducción de los porcentajes en peso, grasa y proteína de la glándula digestiva con la monodieta de mejillón se podría explicar por el menor porcentaje en grasa y proteína en este alimento y a una ingesta muy inferior a la obtenida con la monodieta de lirio.

3.1.4. Alimentación con productos pesqueros alternativos a los ya utilizados: Lisa.

IRTA, C.A. de Cataluña.

Material y métodos.

1- Diseño experimental

Se realizó una prueba de engorde de pulpo (sin distinción de sexo), utilizando dos dietas diferentes (D1 y D2).

D1 → 2:1 (Boga:Cangrejo)

D2 → 2:1 (Pescado de descarte *: Cangrejo)

* Se usó lisa (*Mugil sp.*)

La renovación del tanque fue de: 1renov/h. Se dispuso de dos tanques (10 y 8), compartimentados con entrada de agua independiente en cada compartimento. En cada compartimento iban 6 pulpos. La salida de agua era común a los tres compartimentos.



Figura 1. Detalle del tanque con entrada independiente en cada compartimento.

A cada compartimento se le suministró la siguiente dieta (tabla 1):

Tabla 1. Distribución en tanques. Suministro de alimento

Tanque 10	10A-D1	10B-D2	10C-D1
Tanque 8	8A-D2	8B-D1	8C- D2

La duración total de la experiencia fue de 2 meses (64 días). Se realizaron muestreos cada 15 días para pesar los pulpos.

2-Alimentación

Se suministró diariamente una ración de alimento del 12% de la biomasa. Los sábados se mantuvieron en ayuno. Esta ración se estimó semanalmente (lunes), y se mantuvo a lo largo de la experiencia.

Se suministraba el alimento a primera hora de la mañana (8:30h), y se procedía a la recogida de restos y pesada del mismo a las 15:00h, de cada compartimento, sin diferenciar cangrejo de pescado.

Diariamente, se calculó el alimento ingerido (AI) como diferencia entre el peso del alimento suministrado y peso de los restos de alimento recogido. Se calcularon los siguientes índices:

- Índice de conversión: $(AI_{total}/\Delta Bmt)$
- Tasa de alimentación relativa (%) (TAR): $(AI/Bm)*100$
- Tasa de crecimiento absoluta (TCA): $Pf-Pi/t$
- Tasa de crecimiento específica (TEC): $(\ln Pf-\ln Pi)*100/t$

Donde, ΔBmt es el incremento en biomasa correspondiente a toda la prueba; AI_{total} es la cantidad total de alimento ingerido correspondiente a toda la prueba; Bm es la biomasa media del tanque semanal; AI es la cantidad media de alimento ingerido semanal; Pf es el peso medio final (g) y Pi es el peso medio inicial (g), para periodos comprendidos entre muestreos, y t es el tiempo en días.

3-Medida de parámetros

a) Temperatura y oxígeno (8:00h y 15:00h).

Las dos primeras semanas se tomaron medidas en los tres compartimentos y cada tanque, diariamente. Al constatar la ausencia de variaciones entre dichos compartimentos, se redujo el número de medidas a 1 medida por tanque.

b) pH, salinidad y amonio.

Se tomaron medidas 3 veces por semana.

Resultados.

El inicio de la experiencia se fue retrasando debido a la dificultad de encontrar el suficiente número de juveniles con peso inferior a 1kg. para iniciarlo. Debido a ello, y tal y como se especifica más adelante, parte del periodo de cultivo se realizó a temperaturas desaconsejables para el mismo ($>24^{\circ}C$).

1- Parámetros de cultivo

Los datos más relevantes del seguimiento realizado a diferentes parámetros de cultivo aparecen representados en la tabla 2. Salvo la temperatura, el resto de parámetros no alcanzó niveles críticos para el desarrollo del cultivo, dada la baja densidad a la que se llevó a cabo.

Tabla 2. Parámetros de cultivo: Temperatura (°C), oxígeno (mg/L), Salinidad (ppt), NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺.

TANQUE	Tª (°C) mañana	Tª (°C) tarde	Tª (°C) media	O2 (mg/L) mañana	O2 (mg/L) tarde	O2 (mg/L) media	Salinidad (ppt)	pH	NO ₂ (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)
Boga - cangrejo - 10AD1											
Maximum	26,7	27,0	26,9	8,7	8,3	8,5	36,5	8,4	0,0	0,0	0,3
Minimum	18,7	19,8	19,3	6,0	6,0	6,1	34,7	8,0	0,0	0,0	0,1
Mean	21,6	22,2	21,9	7,4	7,2	7,3	35,7	8,2	0,0	0,0	0,1
Boga - cangrejo - 8BD1											
Maximum	26,7	27,0	26,9	9,0	8,5	8,7	36,5	8,4	0,0	0,0	0,30
Minimum	18,7	19,8	19,3	6,1	6,1	6,1	34,7	8,0	0,0	0,0	0,06
Mean	21,6	22,2	21,9	0,0	0,0	0,0	35,7	8,2	0,0	0,0	0,0
Boga - cangrejo - 10CD1											
Maximum	26,7	27,0	26,9	8,8	8,4	8,5	36,5	8,4	0,0	0,0	0,3
Minimum	18,7	19,8	19,3	5,7	5,9	5,8	34,7	8,0	0,0	0,0	0,1
Mean	21,6	22,2	21,9	0,0	0,0	0,0	35,7	8,2	0,0	0,0	0,1
Lisa - cangrejo - 8AD2											
Maximum	26,7	27,0	26,9	8,7	8,3	8,5	36,5	8,4	0,0	0,0	0,3
Minimum	18,7	19,8	19,3	6,0	6,0	6,1	34,7	8,0	0,0	0,0	0,1
Mean	21,6	22,2	21,9	7,4	7,2	7,3	35,7	8,2	0,0	0,0	0,1
Lisa - cangrejo - 10BD2											
Maximum	26,7	27,0	26,9	8,8	8,3	8,5	36,5	8,4	0,0	0,0	0,3
Minimum	18,7	19,8	19,3	5,7	5,9	5,8	34,7	8,0	0,0	0,0	0,1
Mean	21,6	22,2	21,9	0,0	0,0	0,0	35,7	8,2	0,0	0,0	0,1
Lisa - cangrejo - 8CD2											
Maximum	26,7	27,0	26,9	9,0	8,4	8,6	36,5	8,4	0,0	0,0	0,3
Minimum	18,7	19,8	19,3	6,1	6,1	6,1	34,7	8,0	0,0	0,0	0,1
Mean	21,6	22,2	21,9	0,0	0,0	0,0	35,7	8,2	0,0	0,0	0,0

En la figura 2 se especifican las variaciones de temperatura registradas a lo largo del periodo de cultivo, en medidas tomadas en la mañana (8:00h) y la tarde (15:00h). La experiencia se inicia con temperaturas cercanas a los 19°C, y tal y como se puede observar, a partir del 10 de junio aproximadamente se alcanzan valores por encima de los 24°C, temperaturas desaconsejadas en el cultivo de esta especie, tal y como se detalla más adelante en la tarea 4, desarrollada también en 2007.

Registro de temperatura (hora del día)

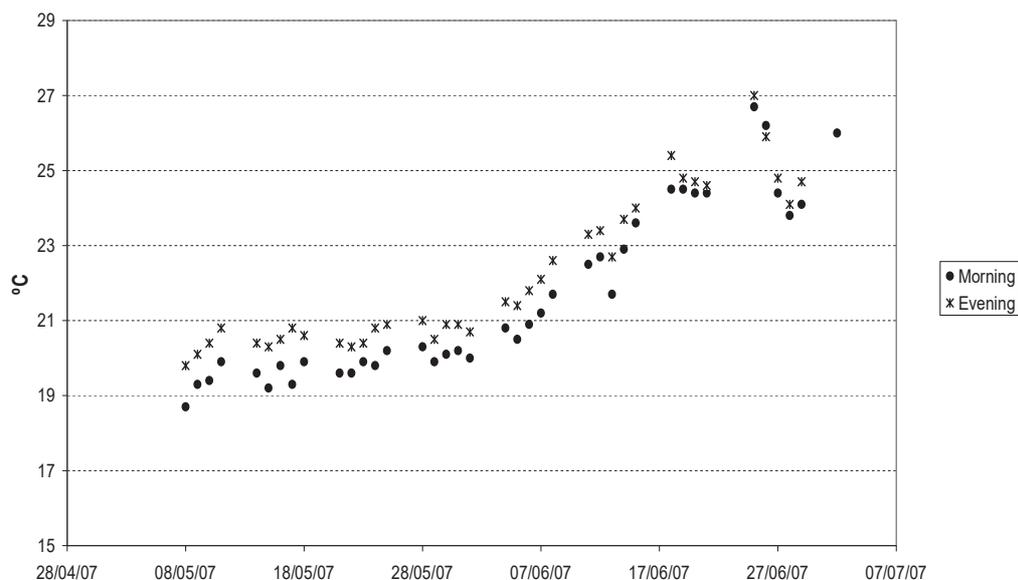


Figura 2. Registro diario de temperaturas a las 8:00h (mañana) y 15:00h (tarde), a lo largo del periodo de cultivo.

2- Alimentación

Las tasas de alimentación relativa aparecen representadas en la figura 3. Estas tasas sufren un descenso paulatino desde el inicio de la experiencia en paralelo a las subidas de temperatura. No parecen existir preferencias ingestivas.

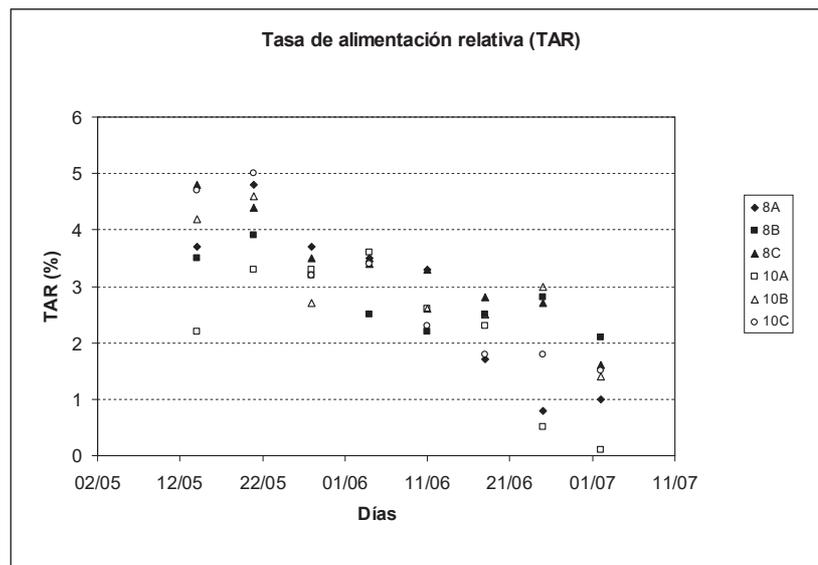


Figura 3. Tasas de alimentación relativa a lo largo del periodo de cultivo.

3- Crecimiento

En la tabla 3 se muestran los datos correspondientes a crecimiento en peso medio, índices de conversión, tasas de crecimiento absoluto y específico, biomasa generada y supervivencia.

Hay que resaltar la baja supervivencia registrada, que incrementó sus valores una vez las temperaturas subían por encima de los 24°C. Hemos de reseñar que el 50% de pérdidas son escapes del sistema de cultivo, y en este sentido, parece que la temperatura también es responsable de dichas fugas. Los pulpos a partir de ciertas temperaturas modifican su comportamiento, y salen con mayor asiduidad de los refugios, con lo que las probabilidades de escape aumentan considerablemente, como fue el caso.

En cuanto a los datos de crecimiento, se produce un significativo incremento en el peso medio de los individuos. La escasa supervivencia incide de manera que, la biomasa generada apenas supera el 24% en el mejor de los casos, y nos impide realizar análisis estadísticos adecuados. En todo caso, la tendencia de los datos (peso medio) nos indica un crecimiento similar de los pulpos independientemente del alimento suministrado. Es decir, la lisa (*Mugil sp.*) parece sustituir adecuadamente de la boga (*Boops boops*), y es una alternativa seria a utilizar como parte de la dieta para engorde de pulpo.

Tabla 3. Evolución del peso medio, supervivencia, índices de conversión, biomasa generada y tasas de crecimiento de *O. vulgaris* alimentado con diferentes dietas.

<i>Réplicas</i>	Boga:Cangrejo			Lisa:Cangrejo		
	10A	8B	10C	8A	10B	8C
<i>Peso medio i (g)</i>	770	785.7	783.2	784.5	821.1	793.2
<i>Peso medio f (g)</i>	2376	3193	3190	2678	2593	2976
<i>Supervivencia(%)*</i>	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3
<i>Biomasa i (kg)</i>		14075			14396	
<i>Biomasa f (kg)</i>		17517			16493	
<i>%Bm generada</i>		24.45%			14.56%	
<i>I.C:</i>	2.9	3.8	3.5	3.2	3.1	3.4
<i>TCA 0-36d</i>	38.1	17.6	31.9	42.2	26.5	37.4
<i>36-64d</i>	8.1	63.4	45	12.1	30.5	29.9
<i>TEC 0-36d</i>	2.83	1.64	2.51	2.91	2.21	2.76
<i>36-64d</i>	0.36	2.90	1.79	0.48	1.43	1.18

*Supervivencia: No considerada como cómputo de individuos no muertos, engloba además pérdidas por escape de individuos del tanque.

3.1.5. Experiencia de engorde con distintos tipos de cebos preparados por ensilaje.

CEP, C.A. de Asturias.

Introducción.

El primer problema con el que nos enfrentamos para diseñar un pienso para el pulpo es la “presentación” adecuada para que sea aceptado e ingerido completamente. Los piensos granulados, extrusionados y semihúmedos ensayados para el pulpo presentan problemas al disgregarse antes de ingerirlos. Por otro lado, el alimento no siempre es consumido inmediatamente, por lo que debe ser estable durante periodos prologados en el agua.

Una alternativa es utilizar los “residuos” o recursos pesqueros infravalorados, no siempre con buena presentación, pero si con unas características nutritivas e higiénico-sanitarias adecuadas. Aprovechando estos residuos, todavía con un alto valor nutricional se valoró la elaboración de determinadas dietas húmedas mediante la técnica conocida por ensilaje.

Material Métodos.

Se utilizaron 9 tipos de cebo elaborados por la Universidad de Santiago de Compostela con los siguientes ingredientes: lirio (*Micromessistius poutassou*) fresco, mejillón (*Mytilus edulis*) cocido y cangrejo (*Carcinus maenas*) entero congelado. Las materias primas se picaron enteras, sin retirada de espinas o caparazones, hasta obtener un tamaño de partícula fino y homogéneo. Se agregó el aglomerante-gelificante con el fin de evitar la disgregación del pienso en el agua.

La mezcla A consta de diferentes aditivos: carragenato, almidón modificado, albúmina y proteína de soja hasta un 14%. En los lotes de ensilado 6 y 7 se añade únicamente carragenato al 2% a modo de control. Se utilizaron temperaturas de cocción de 80°C para facilitar la gelificación, minimizar posibles pérdidas de nutrientes y evitar la aparición de aromas anómalos que pudiesen provocar rechazo en el pulpo.

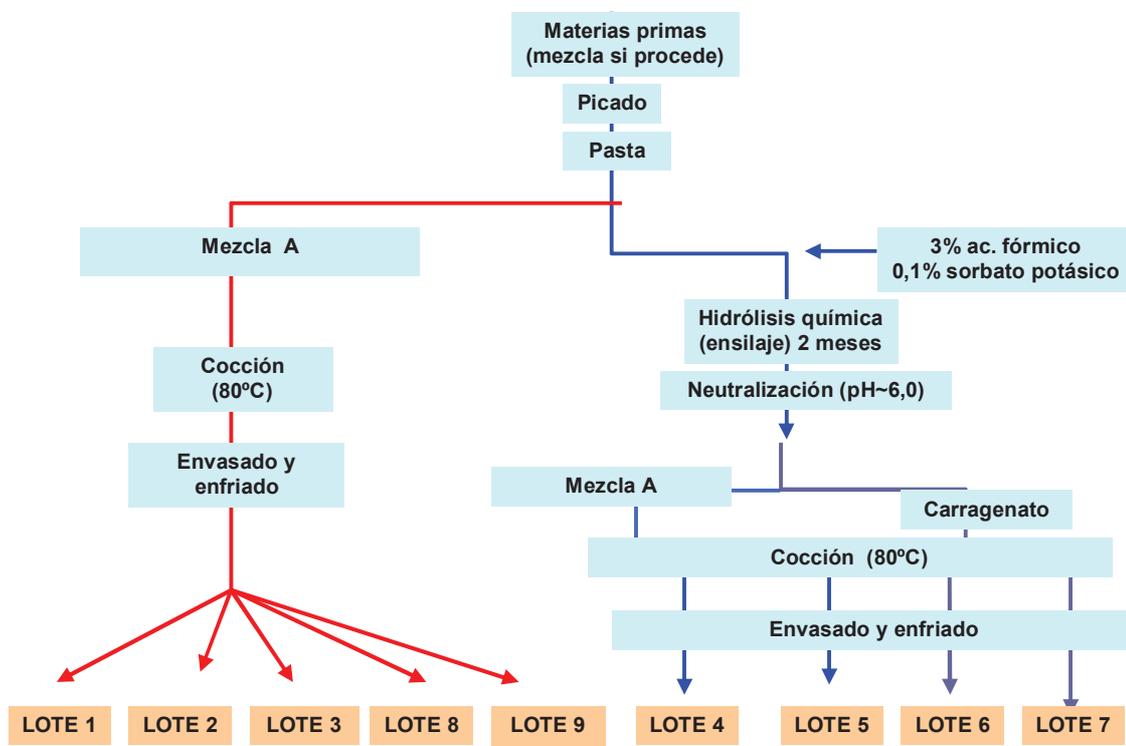


Figura 1.- Elaboración de cebos artificiales a partir de pasta y ensilado de pescado.

En la siguiente tabla se indica el porcentaje de las materias primas empleadas para la elaboración de cada lote.

Tabla I. Composición de los lotes elaborados a partir de pasta y ensilado de pescado.

Lote	Lirio*	Mejillón*	Cangrejo*	Hidrocoloide	Ensilaje
1	100	-	-	Mezcla A	-
2	50	50	-	Mezcla A	-
3	80	20	-	Mezcla A	-
4	100	-	-	Mezcla A	SI
5	50	50	-	Mezcla A	SI
6	100	-	-	Carragenato	SI
7	50	50	-	Carragenato	SI
8	40	30	30	Mezcla A	-
9	-	50	50	Mezcla A	-

(*) % de materia prima en relación al total de pescado empleado.

Los pulpos, después de permanecer en los tanques una semana con alimento natural, se les suministraron los distintos tipos de cebos, para realizar pruebas de estabilidad en el agua y aceptabilidad por parte del pulpo.

Con los cebos seleccionados se llevaron a cabo 2 experiencias de 20 días cada una, 9 pulpos para cada experiencia repartidos en lotes de 3, en tanques rectangulares de 1.000 litros, con refugios de tubos de PVC.

La experiencia nº1 se llevó a cabo en el mes de mayo. Se utilizaron 6 machos y 3 hembras, con pesos entre 900 g y 1.300 g. Los registros de temperatura y de salinidad fueron de 14-16°C y 29-31‰, respectivamente. El alimento utilizado fue el cebo nº 2, 2 dosis diarias por pulpo, de 15 g cada una.

La experiencia nº 2 se realizó en el mes de junio. Se utilizaron 9 pulpos macho, con pesos entre 1.000 g y 1.400 g. Los registros de temperatura y de salinidad fueron de 16-18,6°C y 29-32‰, respectivamente. El alimento utilizado fue alimento natural (lirio, mejillón y cangrejo) y cebos nº 8 y nº 9, 2 dosis por pulpo, de 20 g cada una.

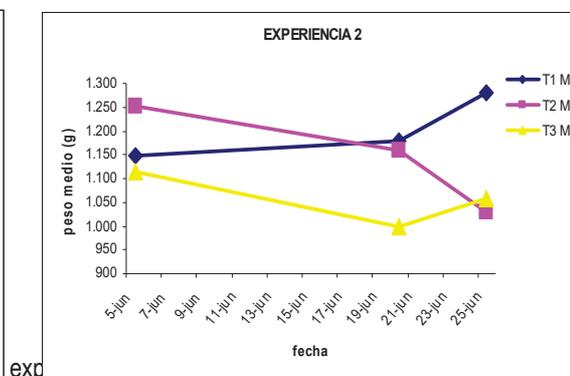
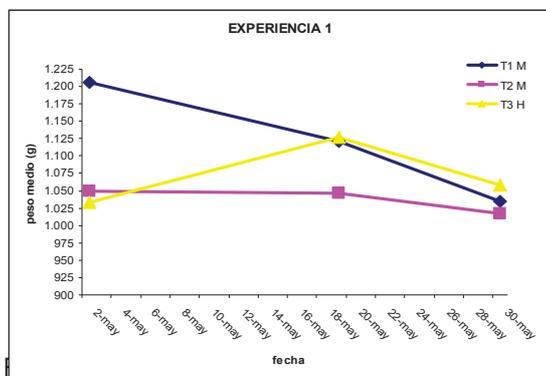
Resultados y Discusión

Prueba de estabilidad del pienso en agua: Las pruebas fueron positivas en los lotes 1, 2, 3, 8, 9 y ensilados 6 y 7. Con los lotes 4 y 5, el resultado fue negativo, se pulverizaba en contacto con el agua.

Prueba de aceptabilidad: La aceptación fue solo visual en los ensilados 6 y 7, lo cazaban y rechazaban al momento, sin embargo fue sub-óptima en los lotes 1, 2, 3, 8 y 9, capturan, intentan digerirla y se disgrega. En base a dichos resultados las experiencias de engorde se llevaron a cabo con los cebos 2, 8 y 9.

En la experiencia 1, con el cebo nº 2 de lirio y mejillón al 50%, solo se obtiene un ligero crecimiento en el lote de las hembras (T3), un incremento del peso medio de 25 g en los 20 días. Los lotes T1 y T2 experimentaron una merma de peso medio de 515 g y 100 g, respectivamente.

En la experiencia 2, con la dieta natural y cebos nº 8 y 9, solo se obtiene crecimiento con la dieta natural, con un incremento de peso medio de 132 g, decreciendo en T2 y T3, 225g con el cebo 8 y 59 con el cebo 9.



- Los cebos utilizados, a pesar de ser aceptados por el pulpo, no resultaron tener el suficiente valor nutricional ni la adecuada textura, para un crecimiento óptimo del pulpo.

3.1.6. Experiencias de engorde de juveniles de pulpo (*Octopus vulgaris*) con piensos a base de alginatos como aglomerante-gelificante.

CEP, C.A. de Asturias.

Introducción

El pulpo de roca (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) es una especie que presenta gran potencial en la acuicultura marina debido a sus características biológicas y elevado valor comercial (Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C y Rodríguez, M., 2006), no obstante, su desarrollo industrial se encuentra limitado por la imposibilidad de obtener juveniles en cautividad y por la ausencia de piensos artificiales de apropiada composición nutritiva, aspecto y textura, para que sea aceptado e ingerido completamente por el pulpo (García García y Cerezo Valverde, 2006).

Material y Métodos

Elaboración de los piensos semi-húmedos de aspecto “gomoso-gelatinoso”.

Siguiendo el protocolo diseñado por el IMIDA se elaboraron 2 tipos de pienso: el pienso control (PC) elaborado a base de lirio, calcio y colesterol y el Pienso (PK) que se complementa con harina de krill y agua. Como aglomerante-gelificante se utilizó el alginato.

Tabla I. Composición de los piensos control (PC) y con harina de krill (PK)

INGREDIENTES	PIENSO CONTROL	PIENSO HARINA KRILL
	Para 5kg	Para 5kg
Papilla Alginato (29%)	94,2g/1,45l agua destilada	94,2/1,45l agua destilada
Lirio (60%)	3kg	
Lirio (50%)		2,5kg
Colesterol (1%)	50g	50g
Calcio solución (10%)	100g/0,5l agua destilada	100g/0,5l agua destilada
Harina Krill (10%)		150g
Agua (7%)		350ml agua destilada

Para su elaboración se utilizó un caldero en donde echó el pescado, la papilla de alginato y el colesterol. A continuación se mezcló con batidora hasta obtener una pasta lo más homogénea posible. Posteriormente se añadió la disolución de calcio, previamente removida para favorecer su disolución y evitar su sedimentación en el fondo. En el caso del pienso con harina de krill, se rebajó la cantidad de pasta de lirio y se sustituyó por la harina de krill y agua. Por último, se volvió a mezclar todo de nuevo con batidora y se repartió en bandejas de plástico con un grosor de 3cm que se mantuvieron en nevera durante 24 horas y posteriormente se congelaron hasta su uso.

Procesado de los pulpos utilizados en las experiencias de engorde.

De cada ejemplar se separó y se pesó la glándula digestiva. El resto del pulpo se trituró, se homogeneizó y se separaron 100g. Ambas muestras (glándula digestiva y 100g del resto) de cada pulpo se envasaron al vacío y se enviaron congeladas al IMIDA, para el análisis de macronutrientes. Se procesaron un total de 21 ejemplares, 3 al inicio y 3 por cada tipo de pienso y réplica, al final de la experiencia.

Estabulación

La experiencia de engorde se llevó a cabo durante 43 días, del 14 de mayo al 26 de junio. Se estabularon 36 pulpos machos en una piscina compartimentada en 6 lotes de 6 ejemplares, a una densidad de 1,5 pulpos/m³. Los valores de temperatura y de salinidad fueron de 15°C-20°C y 32‰-34‰, respectivamente. Los niveles de oxígeno siempre superiores al 80%.

La pauta de alimentación fue a demanda, tacos de 4cm de lado con un peso aproximado de 30g. Diariamente se extraían los restos y se calculaba el alimento ingerido.

Resultados y Discusión

Prueba de estabilidad del pienso en agua: Las pruebas fueron positivas, permanecía 48 horas sin deshacerse.

Prueba de aceptabilidad: La aceptación fue diferente según la composición del pienso. El pienso control presentó una aceptabilidad sub-óptima, empezaron a aceptarlo a las 24 horas, aunque en algunos casos, con rechazo después de capturarlo, sin embargo el pienso con harina de kril fue ignorado y en algunos casos rechazado, justo después de ser capturado

Con los datos obtenidos se calcularon los siguientes índices:

TEC = Tasa Específica de Crecimiento $((\ln(P_f) - \ln(P_i)) * 100 / n^\circ \text{ días})$;

IC = Alimento ingerido/Incremento de biomasa

Tabla II. Resultados de crecimiento con los distintos piensos.

PIENSOS ALGINATOS.	Pienso control (PC)			Pienso harina krill (PK)		
	PC1	PC2	PC3	PK1	PK2	PK3
Alim.ing.(g)	4.974,6	4.153,53	5.605,85	3.050,60	1.933,20	3.649,72
Biom. inicial (g)	6.425	5.560	4.830	5.625	5.375	5.315
Biom. final (g)	6.285	5.600	4.855	3.355	3.165	4.764
Biom. muerta (g)	420	0	765	1.040	1.355	855
Incr.biomasa(g)	(-)	40	25	(-)	(-)	(-)
P. medio inicial	1.070,83 ± 137,67	926,67 ± 50,56	805,00 ± 67,23	937,50 ± 55,48	895,83 ± 46,53	885,83 ± 81,63
P. medio final	1.257,00 ± 258,47	933,33 ± 144,70	971,00 ± 175,76	838,75 ± 307,04	791,25 ± 75,98	953,00 ± 166,08
Incr.P.mediog/mes	129,88	4,65	115,81	(-)	(-)	46,86
TEC	0,30	0	0,41	(-)	(-)	0,16
Mortalidad (%)	16,66	0	16,66	33,33	33,33	16,60

Los piensos semi-húmedos ofrecieron un buen resultado en cuanto a estabilidad y permanencia en el agua, sin embargo el rechazo de los pulpos ante el pienso elaborado con harina de krill provocó una reducción de la ingesta, ausencia de crecimiento y aumento de la mortalidad. Con el pienso control, sin harina de krill, se obtuvieron crecimientos muy bajos, una media de incremento en peso de 83,17g/mes y 0,23 de crecimiento específico, inferiores incluso a los valores obtenidos con la monodieta del mejillón 84,53g/mes y 0,26, respectivamente.

Tabla III. Valores medios de crecimiento con los distintos piensos.

	Pienso control	Pienso harina krill
Alim.ing.(g)	14.735	8.634
Biom. inicial (g)	16.815	16.3115
Biom. final (g)	16.740	11.285
P. medio inicial	934,50	906,39
P. medio final	1.053,78	861,00
Inc.P.medio/mes	83,17	-31,67
TEC	0,23	(-)
Mortalidad (%)	11,11	27,77

Análisis bioquímicos

En la tabla IV, se muestran los valores en cuanto a grasa, proteína, humedad y cenizas en ambos tipos de pienso. Como podemos observar, la composición de ambos tipos de pienso, en cuanto a macronutrientes, se mantienen similares, salvo en el porcentaje de grasa que disminuye en el pienso PK, al sustituir parte del lirio por la harina de krill.

Tabla IV. Composición de los piensos elaborados: pienso control (PC) y con harina de krill (PK).
Datos del IMIDA. Murcia.

MUESTRA	GRASA (%)	PROTEINA (%)	HUMEDAD (%)	CENIZAS (%)
Media PC	1,99	12,42	82,94	3,55
SD PC	0,95	0,38	0,45	0,28
Media PK	1,61	12,33	81,93	3,51
SD PK	0,13	0,30	0,26	0,06

En las Tablas V, VI y VII se presentan los datos y los resultados de las analíticas realizadas de los pulpos alimentados con piensos semi-húmedos.

Tabla V. Datos de pesos de los pulpos analizados al inicio y final de engorde con los piensos control (PC) y harina de krill (PK).

Muestra	Fecha	Peso total (g)	Peso glánd. (g)	Peso resto (g)	%peso glándula/total
I.1	24.04.09	1.005	47,5	957,5	4,7
I.2	24.04.09	1.050	52,8	997,2	5,0
I.3	24.04.09	1.145	66,8	1.078,2	5,8
1PC.1.	26.06.09	1.245	21,8	1.223,2	1,75
1PC.2	26.06.09	1.205	25,2	1.179,8	2,1
1PC.3	26.06.09	1.180	14,5	1.165,5	1,2
2PC.1	26.06.09	1.055	28,8	1.026,2	2,7
2PC.2	26.06.09	900	9,0	891,0	1,0
2PC.3	26.06.09	1.120	18,8	1.101,2	1,6
3PC.1	26.06.09	935	16,8	918,2	1,8
3PC.2	26.06.09	845	15,0	830,0	1,8
3PC.3	26.06.09	830	12,8	817,2	1,5
1PK.1	26.06.09	830	8,3	821,7	1,0
1PK.2	26.06.09	750	5,9	744,1	0,8
1PK.3	26.06.09	1.255	50,4	1.204,6	4,02
2PK.1	26.06.09	760	6,9	753,1	0,9
2PK.2	26.06.09	900	19,4	880,6	2,1
2PK.3	26.06.09	725	12,0	713,0	1,6
3PK.1	26.06.09	950	6,6	943,4	0,7
3PK.2	26.06.09	825	5,1	819,9	0,6
3PK.3	26.06.09	1.000	47,6	952,4	4,76

Tabla VI. Valores medios en % en peso de glándula digestiva con respecto al peso total del pulpo según los distintos lotes de control.

Muestra	Inicio (%)	PC (%)	PK (%)
Media	5,16	1,71	1,82
SD	0,56	0,49	1,53

Tabla VII. Valores medios de humedad, grasa, proteína y cenizas en glándula digestiva (Gd) y resto (R) de los pulpos engordados con piensos semi-húmedos (PC) y (PK), analizados por el IMIDA.

GRUPO	Hum-Gd (%)	Hum-R (%)	Gra-Gd (%)	Gra-R (%)	Pro-Gd (%)	Pro-R (%)	Cen-Gd (%)	Cen-R (%)
Media Inicio	68,17	82,13	4,33	0,11	20,81	13,35	1,76	2,06
SD	3,18	0,24	0,98	0,08	2,5	0,28	0,23	0,15
Media PC	74,55	85,29	0,8	0,26	17,24	10,92	1,87	2,17
SD	3,07	1,84	0,32	0,11	1,79	2,12	0,19	0,15
Media PK	72,27	85,28	1,35	0,15	16,79	10,46	1,71	2,17
SD	5,78	1,56	0,82	0,15	3,95	1,75	0,35	0,17

En las figuras 1 y 2 podemos comprobar que la glándula digestiva presenta mayores porcentajes de grasa y de proteína que el resto del pulpo y mayores diferencias entre los pulpos engordados con los 2 tipos de pienso y los pulpos salvajes. Los niveles de grasa y de proteína, en glándula digestiva, después de haber sido alimentados con los piensos se reducen a valores de grasa de 0,8 y 1,35 frente a 4,33 y valores de proteína de 17,24 y 16,79 frente a 20,81, con respecto a los pulpos salvajes.

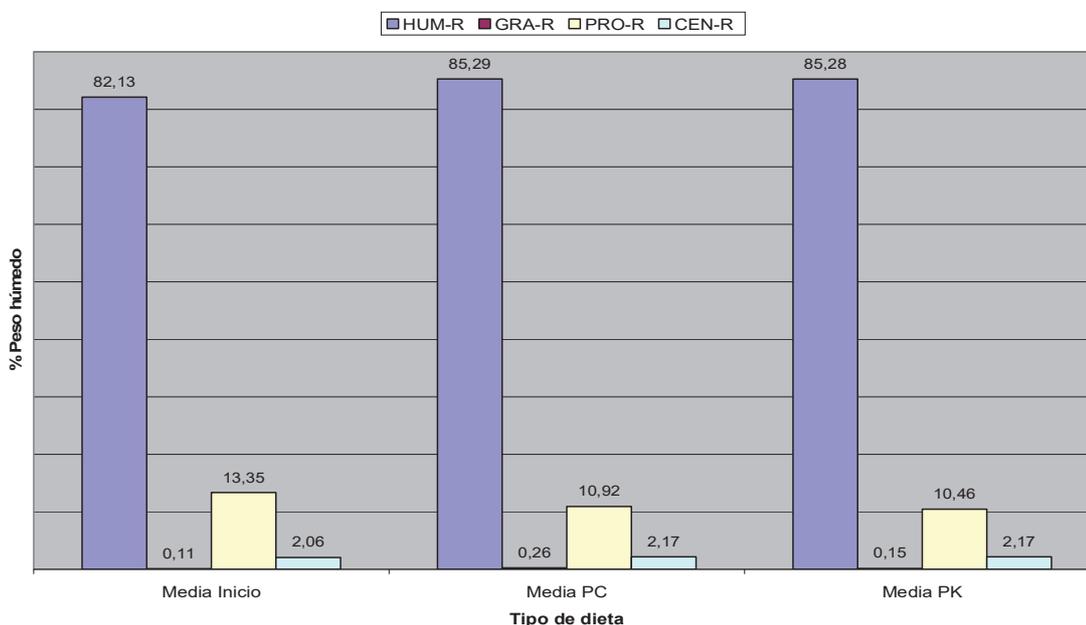


Figura 1. Valores medios de humedad, grasa, proteína y cenizas en pulpos, sin glándula digestiva, alimentados con dieta natural y distintos piensos.

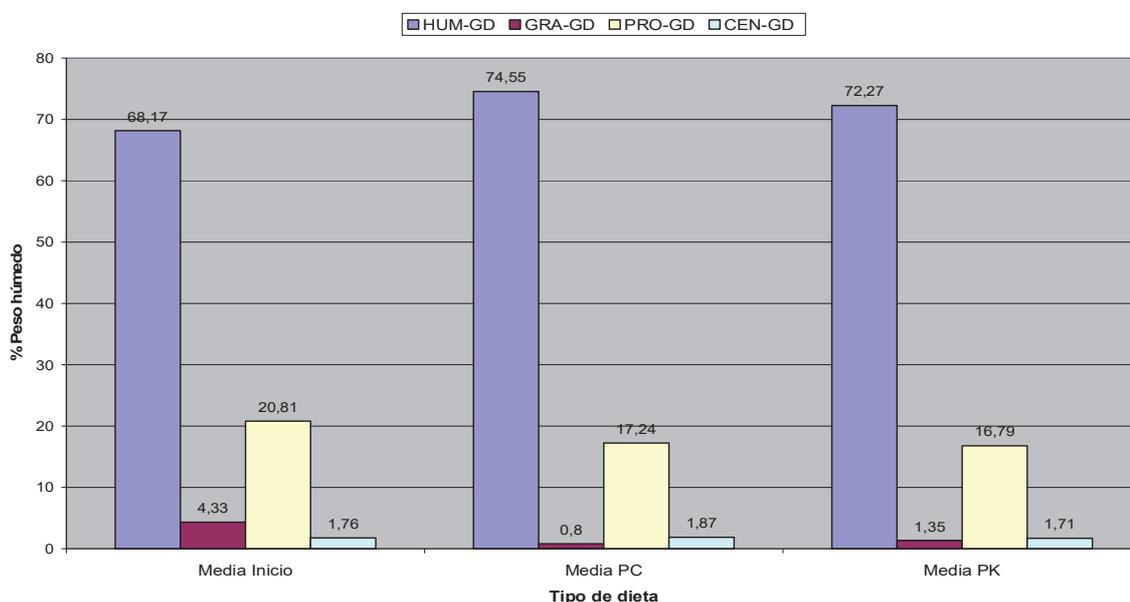


Figura 2. Valores medios de humedad, grasa, proteína y cenizas en glándula digestiva de pulpos alimentados con dieta natural y distintos piensos.

- Los piensos semihúmedos utilizados ofrecieron buenos resultados en cuanto a textura y estabilidad en el agua. No obstante, la adición de harina de krill al pienso control produjo rechazo y, consecuentemente, menor ingesta y peores crecimientos. Ambos piensos producen una reducción en el porcentaje en peso de glándula digestiva con respecto a los pulpos salvajes y una tasa de crecimiento inferior a las obtenidas con las monodietas naturales

• Bibliografía.

- Cerezo, J. y García, B. 2007. Crecimiento y aprovechamiento nutritivo de dos dietas húmedas artificiales en el pulpo de roca (*Octopus vulgaris*). XI Congreso Nacional de Acuicultura. Vigo.
- Cerezo, J., Hernández, M.D., Aguado-Giménez, F. y García, B. 2008. Growth, feed efficiency and condition of common Octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266-273.
- Cerezo, J., Tomás, A., Martínez-Llorens, S., Jover, M. García, S., Rodríguez, C., Gairín, I., Estefanell, J., Pascual, C. y García, B. 2009. Composición en aminoácidos e índices de calidad proteica de dietas naturales e ingredientes alternativos para el desarrollo de piensos en el pulpo común (*Octopus vulgaris*) ACTAS XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid.
- Cerezo, J., Hernández, M.D., Aguado-Giménez, F. y García, B. 2009. Composición en minerales de los distintos tejidos del pulpo común (*Octopus vulgaris*) en distintas estaciones del año. XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid.
- Estefanell, J., Socorro, J., Roo, J., Martín, A., Fernández-Palacios, H. y Izquierdo, M. 2007. Crecimiento individual de *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) alimentado con pienso húmedo experimental y boga *Boops boops* (L.1758). XI Congreso Nacional de Acuicultura. Vigo.

- Estefanell, J., Roo, J., Socorro, J., Guirao, R., Fernández-Palacios, H. y Izquierdo, M. 2009. Efecto del origen y presentación de la boga en el engorde de pulpo común *Octopus vulgaris*. XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid.
- García, B. Cerezo, J. 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing. *Aquaculture* 253: 502-511.
- García, S., Domínguez, P., Garrido, D., Rodríguez C.J., y Pascual, C. 2009. Efecto de dietas experimentales, con y sin atrayente, sobre el crecimiento del pulpo común, *Octopus vulgaris*. ACTAS XII Congreso Nacional de Acuicultura. Madrid.
- Quintana, D., Domínguez, P. y García, S. 2007. Experimento preliminar al diseño de dietas artificiales para juveniles de pulpo común (*Octopus vulgaris*). XI Congreso Nacional de Acuicultura. Vigo.
- Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C y Rodríguez, M., 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile on growing in floating cages. *Aquaculture*, 254: 293-300.

3.1.7. Experiencia de engorde con pienso semihúmedo (cebo) y extrusionados. IRTA, C.A. de Cataluña,

Durante la primavera 2010 se han llevado a cabo experiencias de engorde de pulpo en tanques utilizando piensos elaborados y suministrados por la Universidad de Santiago de Compostela. (figuras 1 y 2).

El valor nutricional del cebo elaborado por la Universidad de Santiago de Compostela contenía un 5% de proteína de soja añadido a una base de lirio entero: pota eviscerada 90:10 22,1% de proteína, 5,3% de lípidos (aportados mayoritariamente por las vísceras del lirio, los ácidos se muestran en tabla. 3.7% cenizas. El resto es agua.

Tabla FAMES de ac. Grasos (% del total de AG) de cebo:

Lípido	Cebo
12:00	
13:00	
14:00	3.28
15:00	1.16
16:00	29.38
16:01	4.67
17:00	1.25
18:00	7.49
18:01	13.38
18:2 (n-6)	1.17
18:3 (n-3)	1.62
20:00	1.96
20:01	3.31
20:2 (n-6)	
20:3 (n-3)	
20:4 (n-6)	2.60
20:5 (n-3)	8.61
22:01	2.03
22:6 (n-3)	18.09
Total satur.	44.53
Monoinsat.	23.38
Poliinsat.	32.09
w-3	28,31
w-6	3.77

Las abundantes lluvias caídas en el periodo primaveral pueden haber provocado que el pulpo migrara a mayores profundidades, hecho que ha disminuido las capturas con las artes tradicionales del cadufo. Debido a esa baja captura de individuos, las experiencias que se han llevado a cabo han sido con un número menor de réplicas por ensayo y con una menor cantidad de unidades por réplica.

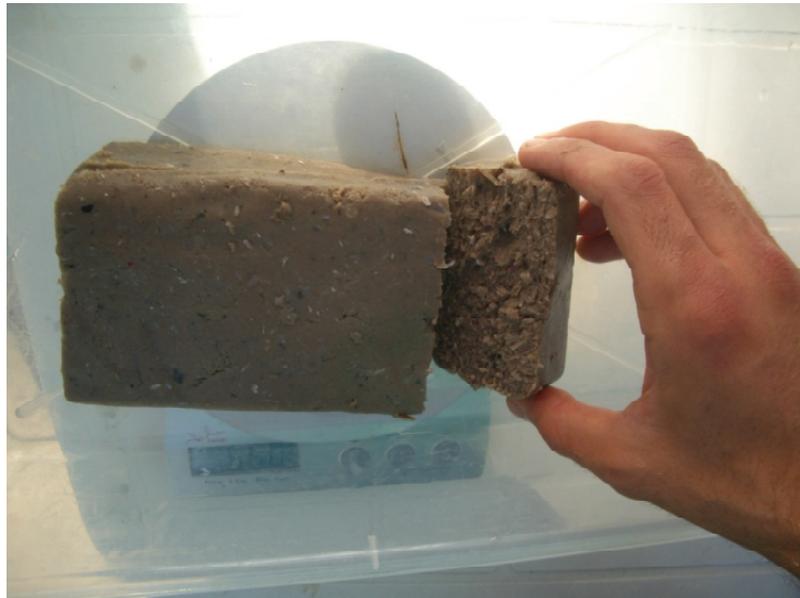


Figura 1. Tableta de pienso húmedo



Figura 2. Pienso troceado

Material y métodos

1.- Diseño experimental

Se utilizaron 2 tanques de 1.800 litros compartimentados en 3 divisiones cada uno de ellos. El tanque 1 sirvió como control, y a los pulpos del tanque 2 se le suministró la dieta del pienso experimental.

La falta de individuos para llevar a cabo la experiencia en las condiciones óptimas hizo que el tanque control no tuviera grupos, y que el tanque experimental de engorde con pienso húmedo tuviera dos grupos.

2.- Alimentación:

Tanque 1: tanque control. La alimentación consistió en suministrar 2 días a la semana cangrejo (*Carcinus sp*) miércoles y domingo, y 4 días pescado → boga (*Boops boops*), lunes, martes, jueves y viernes. El sábado era el día de ayuno. Este tipo de alimentación y la misma pauta es la que se ha llevado utilizando en las experiencias de los otros años dentro de este mismo proyecto.

Tanque 2: 2 grupos, A y B: 1 con un peso medio de 1.200 g y el otro con un peso medio de 1.348 g. Los dos alimentados con pienso semihúmedo elaborado por la Universidad de Santiago. En este tanque, se procedía diariamente a la retirada del pienso no consumido al cabo de 6-7 horas del suministro. El pienso contenía un 5% de proteína de soja añadido a una base de lirio entero: pota eviscerada 90:10. 22,1 % de proteína; 5,3 % de lípidos (aportados la mayor parte por las vísceras del lirio); los ácidos grasos se detallan en la memoria (AG); 3,7 % cenizas (aportadas por la estructura esquelética del lirio).

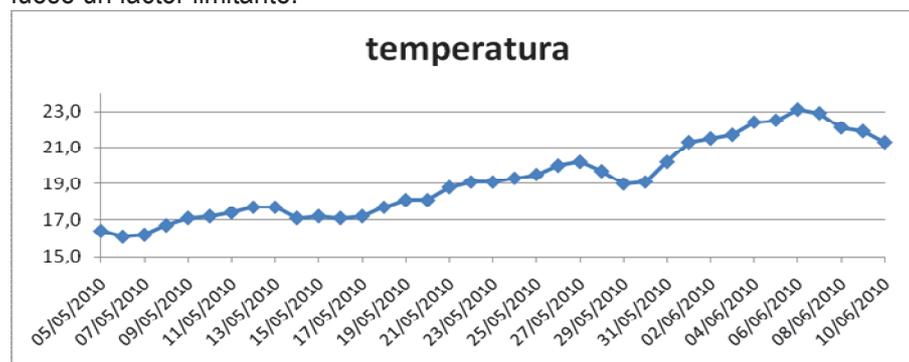
Porcentajes de alimentación (alimento suministrado) a lo largo de la experiencia:

Tanque 1: Boga: 10%; Cangrejo: 15%

Tanque 2: Pienso húmedo: 4-5%

3.- Medición de parámetros:

Diariamente se tomaban datos de temperatura y oxígeno. El lector de oxígeno que se utilizó fue un aparato WTW OXI 330i. Los niveles de oxígeno se mantuvieron, mediante el control del flujo de entrada de agua. El objetivo fue estar por encima del 90% de saturación, de modo que el oxígeno no fuese un factor limitante.



La experiencia se llevó a cabo durante un periodo de 37 días con temperaturas que no bajaron de los 16° C y que no superaron los 23 °C.

4.- Cálculo de tasas:

El inicio de la experiencia (W_i =peso inicial), día 15 (W_{in} =peso intermedio), al día 29 (W_{final} = peso final).

Para la experiencia llevada a cabo con pienso, se calcularon los siguientes índices: Tasa de crecimiento específica ($SGR=(\ln W_f - \ln W_i) 100/t$); Índice de conversión alimento suministrado (FCR = alimento suministrado / ($W_f - W_i$) donde W_f es el peso final, W_i es el peso inicial, t =tiempo. Estos cálculos se realizaron para cada muestreo que era cada 15 días

El alimento se suministró cada día sobre las 10:00 a.m., y los restos eran recogidos sobre las 16:00 p.m.

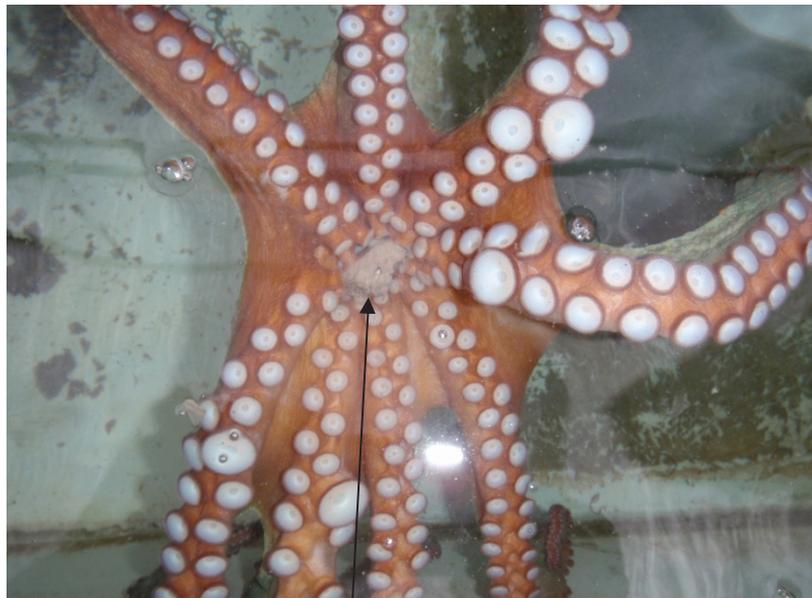


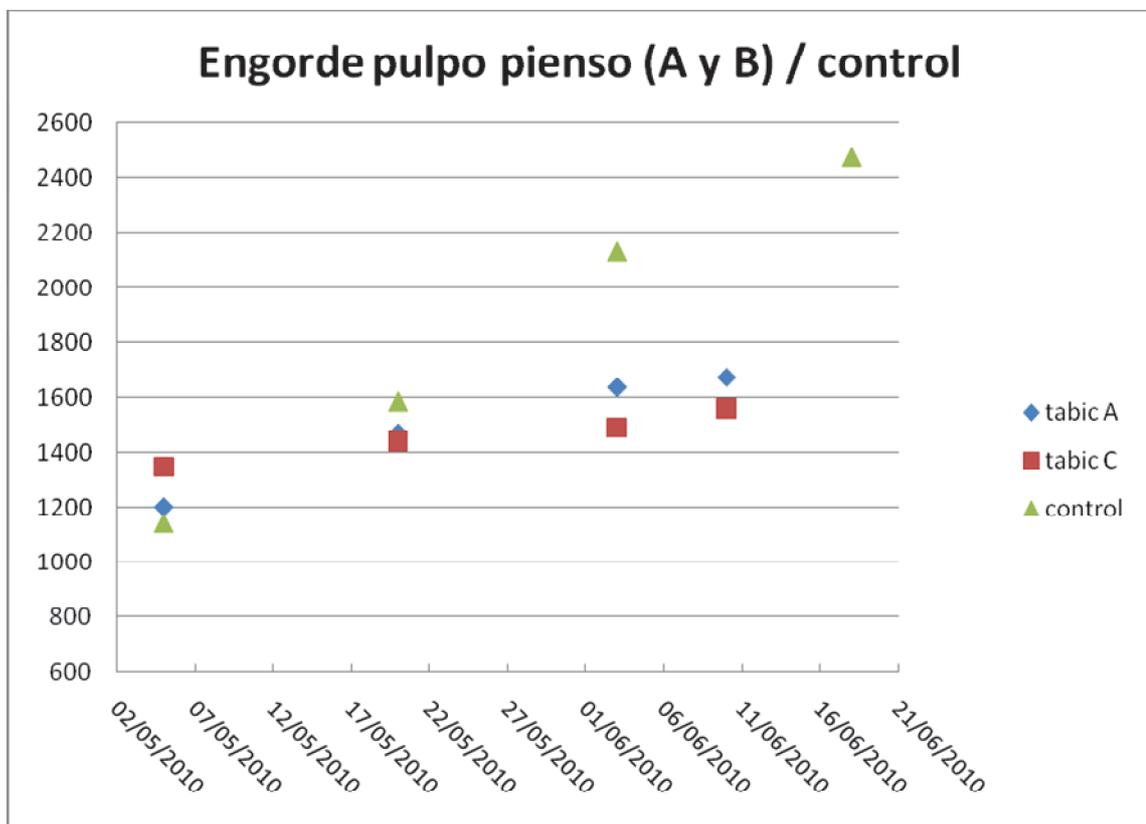
Figura 3. Trozo de pienso

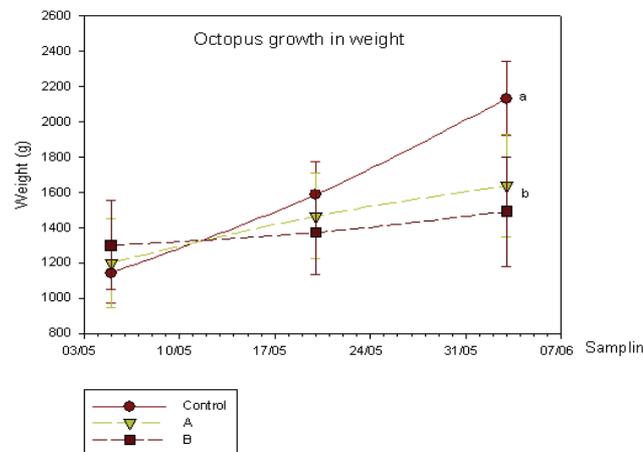
5.-Resultados

Durante esta experiencia primavera/10 se dieron más escapes de pulpos de los tanques, y estos coincidieron mayoritariamente con el fin de semana. Se plantea la posibilidad que el sábado como día de ayuno pueda causar un estrés adicional a la población que desencadene un comportamiento de huida en busca de alimento. Esta pérdida de animales no se había registrado en las experiencias de los años precedentes en los que de igual forma, los animales ayunaban los sábados.

Los crecimientos del grupo control son significativamente mayores que los del grupo al que se les suministró pienso:

	tabique A	Tanque dieta tabique C	Tanque control control
05/05/2010	1200	1348	1143
20/05/2010	1465	1441	1587
03/06/2010	1637	1491	2132
10/06/2010	1674	1562	
18/06/2010			2473





t-test

Data source: Octopus data
 Normality Test: Passed (P = 0,822)
 Equal Variance Test: Passed (P = 0,477)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Control	5	0	2132,0	211,737	94,692
Art Diet	9	0	1572,2	290,077	96,692

Difference 559,778
 t = 3,765 with 12 degrees of freedom. (P = 0,003)

95 percent confidence interval for difference of means: 235,863 to 883,692.
 The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = 0,003).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,927

	SGR				FCR		
	5/5 - 20/5	21/5 - 3/6	4/6 - 10/6		5/5 - 20/5	21/5 - 3/6	4/6 - 10/6
8 Control	2,19	2,11			5,65	5,09	
Esc. A	1,33	0,79	0,32*		3,97	4,83	13,91*
Esc. C	0,44	0,24	0,77*		10,24	15,04*	5,29*

* Pérdida de un pulpo

Indices de conversión alimento control año 2007

		<i>Biomasa generada</i>	<i>Alimento suministrado</i>	<i>Alimento ingerido</i>	<i>Índice de conversión al suministrado</i>	<i>Índice de conversión al ingerido</i>	<i>Número pulpos final</i>
<i>Baja densidad</i>	<u>Tanque 8 A</u>	20.346	69.337	29.635	3.4	1.45	10
	<u>Tanque 8 B</u>	12.077	66.824	27.877	5.5	2.3	7
	<u>Tanque 8 C</u>	21.512	61.985	25.736	2.9	1.2	12
<i>Alta densidad</i>	<u>Tanque 10 A</u>	28.976	121.184	47.486	4.2	1.6	20
	<u>Tanque 10 B</u>	28.284	122.492	42.692	4.3	1.5	17
	<u>Tanque 10 C</u>	27.824	122.434	50.449	4.4	1.8	17

Otoño 2010

Durante otoño del 2010 se repitieron las experiencias de alimentación utilizando la dieta semihúmeda elaborada por la Universidad de Santiago de Compostela y se pudo llevar a cabo otro ensayo en paralelo con una dieta extrusionada suministrada por la Universidad Politécnica de Valencia (figura 4).

Los pulpos fueron capturados con artes de cadufo o de nasas. Se puso chip a todos los pulpos, pero hubo pérdidas de los mismos por lo que en ocasiones no se pudieron identificar los escapes o las bajas.



Figura 4

Material y métodos

1.- Diseño experimental

Se utilizaron 3 tanques compartimentados en 3 unidades de cultivo con entrada de agua independiente y se utilizó 1 tanque para cada dieta. Los tanques se llenaron con unos 1.800 litros lo que significa que cada compartimento venía a contener unos 600 litros de agua. Se fijó un nivel de agua no muy elevado para evitar, en lo posible, los escapes y se recubrió el borde del tanque con césped artificial. El flujo de entrada era de 600 litros/hora, comprobándose este dato 2 veces/semana. (Figura 5)

Las experiencias se han llevado a cabo en su mayoría con grupos de 6 pulpos por compartimento, intentando minimizar la dispersión de la población en cada uno de los compartimentos para evitar el canibalismo. Por lo que se confeccionó un grupo de pulpos grandes, uno mediano y uno pequeño para cada una de las 3 dietas.

La duración total de la experiencia fue de 6 semanas, y cada 14 días se procedió a muestrear toda la población de cada uno de los tanques. Para ello se introducía cada pulpo en una bolsa de malla que se taraba, y se pesaba con un dinamómetro electrónico **Ken HDB**.



Figura 5

2.- Alimentación

A diferencia del ensayo de primavera, en otoño los pulpos se alimentaron los 7 días de la semana para comprobar si disminuían los escapes o las bajas, cosa que no ocurrió.

A cada uno de los tanques se le suministró 1 dieta distinta:

- Tanque Esc (A, B, C): dieta control (pescado blanco + cangrejo 2:1)
- Tanque 10 (A, B, C): dieta extrusionada de la Universidad Politécnica de Valencia

- Tanque 8 (A, B, C): dieta semihúmeda de la Universidad de Santiago

Los porcentajes de alimentación que se dieron durante la experiencia fueron los siguientes:

Dieta control: 15 % de cangrejo (2 veces/semana) y 10 % de pescado (5 días/semana)

Dieta seca (UPV): 1% del peso vivo

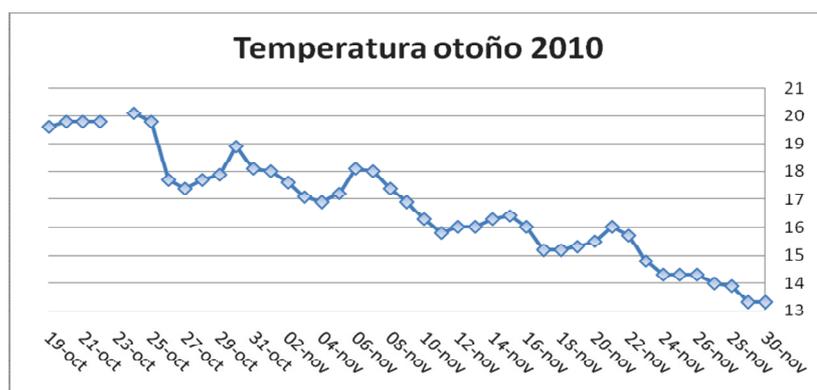
Dieta húmeda (USC): 4% del peso vivo

3.- Medición de parámetros

Oxígeno: Con un aparato WTW Oxi 330i se midió 2 veces/día. El mínimo valor registrado fue de 4.7 ppm, que a 20 °C significa un 65% de saturación aproximadamente.

Temperatura: Las temperaturas mínima y máxima alcanzadas durante el período en el que se llevó a cabo el ensayo fueron de 13.3 °C y 20.1 °C respectivamente.

Recordemos que experiencias anteriores con pulpos, ya habían demostrado que a temperaturas entre 15 °C y 24 °C se obtienen resultados óptimos de crecimiento.



Temperatura media entre muestreos:

1ª quincena: 18.6 °C

2ª quincena: 16.7 °C

3ª quincena: 14.6 °C

4.- Composición de las dietas

Pienso extrusionado

Composición del pienso extrusionado (g/1000g).

Materias primas						
Pienso	H. Krill	Trigo	Gelatina	Ac. Pesc.	Maltodextrina	Vitaminas
	600	100	200	0	80	20

Pienso húmedo

El valor nutricional del cebo elaborado por la Universidad de Santiago de Compostela contenía un 5% de proteína de soja añadido a una base de lirio entero: pota eviscerada 90:10 22,1% de proteína, 5,3% de lípidos (aportados mayoritariamente por las vísceras del lirio, los ácidos se muestran en tabla. 3.7% cenizas. El resto es agua.

ANALISIS DE LOS PIENSOS DEL PULPO

	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	CH
Pienso Seco	14,01	46,50	6,59	5,56	27,34
Pienso Húmedo	71,06	22,49	3,31	3,57	-0,43
Alimento Natural	78,23	14,04	0,33	4,02	3,38

MATERIA SECA Y CENIZAS

MUESTRAS	PESO CRISOL	P.C.+MUESTRA	P.C.+ M.S.	P.C.+ CENIZAS	% M.S	% M.S	% Cenizas	%Cenizas	% Cenizas Ms	% Cenizas Ms
Seco	35,07	37,85	37,46	35,22	85,99		5,59		6,50	
Seco	31,22	33,17	32,89	31,33	85,80		5,52		6,41	
Seco	33,30	36,10	35,71	33,46	86,18	85,99	5,59	5,57	6,50	6,47
Húmedo	31,97	34,77	32,79	32,08	29,10		3,74		12,93	
Húmedo	35,68	38,58	36,52	35,78	28,74		3,43		11,84	
Húmedo	39,09	42,06	39,95	39,19	28,98	28,94	3,54	3,57	12,24	12,34
Natural	35,73	38,59	36,35	35,85	21,72		4,03		13,93	
Natural	33,64	36,76	34,32	33,76	21,79		3,99		13,78	
Natural	37,56	40,58	38,22	37,68	21,79	21,77	4,04	4,02	13,95	13,88

PROTEINA

MUESTRAS	PESO MUESTRA	SOL. VALORANTE	% P.B.(Hum)	% P.B.(Hum)	% PROTEINA	%P.B.SECO
Seco	0,50	25,99	45,82		53,29	
Seco	0,50	26,74	46,86		54,50	
Seco	0,50	26,71	46,83	46,50	54,46	54,08
Húmedo	0,52	13,55	22,59		78,05	
Húmedo	0,50	13,12	22,83		78,88	
Húmedo	0,52	13,37	22,38	22,49	77,35	78,09
Natural	0,49	8,04	14,29		65,64	
Natural	0,51	8,25	14,17		65,10	
Natural	0,50	7,73	13,66	14,04	62,75	64,50

GRASA BRUTA

MUESTRAS	PESO MUESTRA	PESO VASO	P.V.+ GRASA	% G.B. Húm.	% G.B. Húm.	% GRASA	% GRASA SECO
Seco	1,82	25,56	25,68	6,88		8,01	
Seco	1,78	25,54	25,65	6,37		7,41	
Seco	1,85	23,70	23,82	6,51	6,59	7,57	7,66
Húmedo	2,03	25,69	25,76	3,39		11,71	
Húmedo	2,10	25,26	25,33	3,37		11,64	
Húmedo	2,07	24,81	24,88	3,17	3,31	10,97	11,44
Natural	2,04	23,70	23,71	0,36		1,64	
Natural	2,06	22,35	22,36	0,34		1,54	
Natural	2,25	25,79	25,80	0,31	0,33	1,41	1,53

5.- Cálculo de tasas

En la prueba de otoño se procedió, como en primavera, a la retirada del alimento no ingerido a las 6-7 horas después del suministro, pero en el caso del tanque 10 (pienso extrusionado) se pesó el alimento no ingerido para poder calcular el índice de conversión del pienso extrusionado ingerido. Se procedió a hacer el cálculo del porcentaje de agua que absorbía el pienso cuando estaba 6 horas en contacto con el agua para poderla restar posteriormente del pienso recogido y se obtuvo el índice de conversión del pienso ingerido por los pulpos.

		SGR				FCR		
		19/10 - 2/11	3/11 - 16/11	17/11 - 30/11		19/10 - 2/11	3/11 - 16/11	17/11 - 30/11
Esc. A	P	1,93	2,36	1,42		4,83	3,84	5,07
Esc.B	G	2,36	1,44	1,37		3,82	6,69	5,98
Esc.C	M	1,92	1,88	1,29		4,86	5,98*	7,25
10^a	M	neg.	0,43	0,20		neg.	2,10	4,32
10B	P	0,48	0,05	0,18		2,21*	19,93	4,15
10C	G	0,57	0,53	0,21		2,47**	1,68	4,03
8^a	G	0,66	1,02	0,60		5,37	3,36*	5,17
8B	M	1,00	0,97	1,21		4,12*	2,97	3,08*
8C	P	1,31	0,99	0,86		2,59	3,51	3,55

*Se perdió un pulpo entre muestreos

** Se perdieron dos pulpos entre muestreos

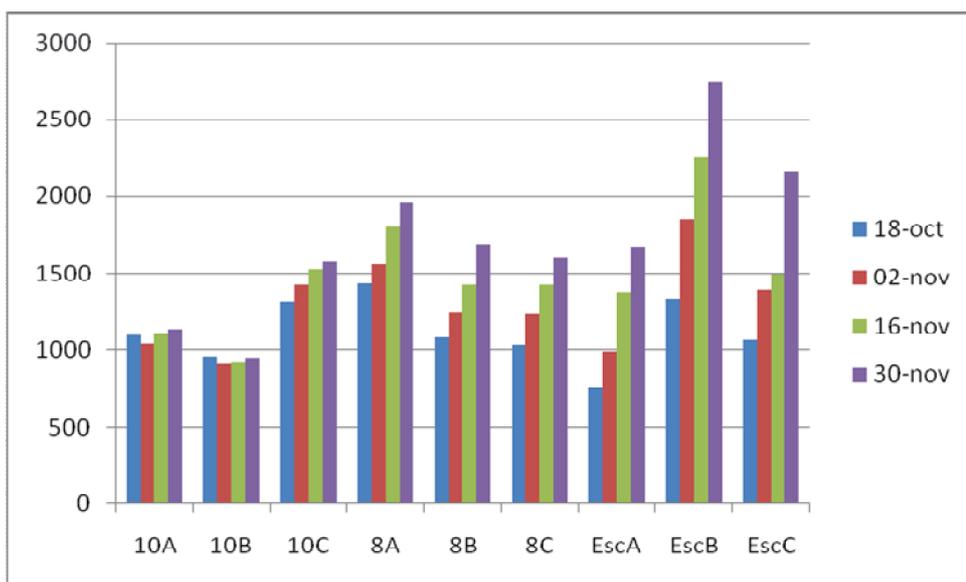
FCR pienso extrusionado de la UPV:

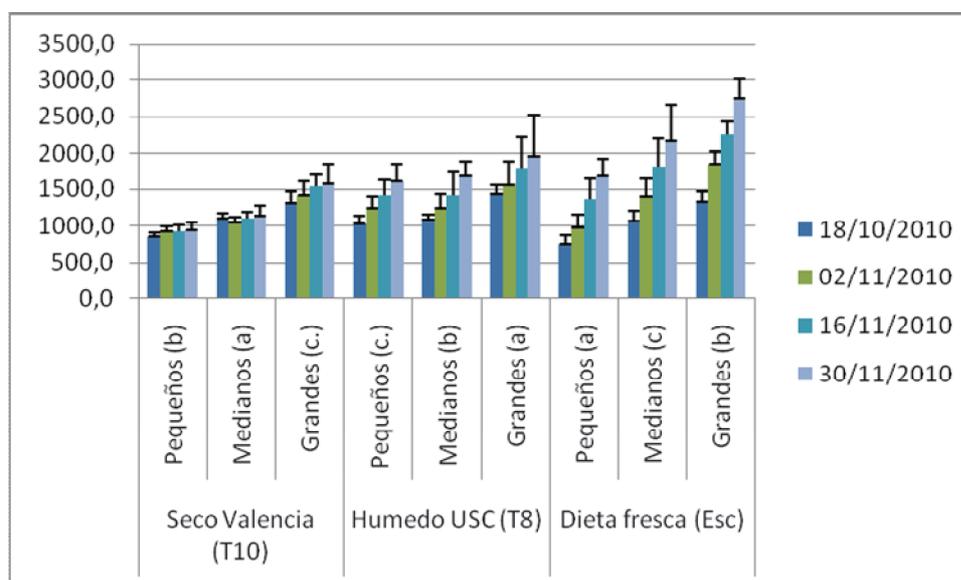
periodo	tanque	pienso seco ingerido	Increment biomasa	I.C pienso ingerido
19/X al 2/XI	10 A (M)	0	negativo	
	10 B (P)	112.16	300	0.37
	10 C (G)	58.53	436	0.13
3/XI al 16/XI	10 A (M)	314	384	0.82
	10 B (P)	100.6	30	3.35
	10 C (G)	119.2	440	0.27
17/XI al 29/XI	10 A (M)	285.8	192	1.48
	10 B (P)	146.3	120	1.22
	10 C (G)	159.5	184	0.86

Resultados

PESOS MEDIOS

		18-oct	02-nov	16-nov	30-nov	
<i>dieta seca upv</i>	10A	1096	1042	1106	1138	M
	10B	857	917*	923	947	P
	10C	1313	1422**	1532	1578	G
dieta húmeda usc	8A	1427	1565	1806*	1963	G
	8B	1080	1243*	1424	1686*	M
	8C	1030	1237	1420	1601	P
dieta control	EscA	752	985	1370	1671	P
	EscB	1330	1850	2264	2743	G
	EscC	1063	1391	1810*	2167	M





- 10 → dieta seca (UPV)
- 8 → dieta semi-húmeda (USC)
- Esc → dieta control

En general los pulpos alimentados con la dieta húmeda y fresca crecieron significativamente ($p < 0.05$) durante el ensayo y los pulpos alimentados con la dieta seca no presentaron diferencias en peso durante el ensayo (figuras A, B y C.). Al inicio del ensayo con los pulpos pequeños el grupo de la dieta húmeda fue significativamente más grande de los otros grupos y no es posible comparar el crecimiento del grupo con los otros grupos (figura A.), sin embargo, con la dieta húmeda crecieron significativamente ($p < 0.05$) de $1030 \pm 106g$ a $1601 \pm 246g$. El grupo alimentado con la dieta fresca creció significativamente ($p < 0.05$) de $752 \pm 114g$ a $1672 \pm 256g$, y al final del ensayo fue significativamente más grande que los pulpos alimentados con el dieta seca. Durante el ensayo, no hubo diferencias en el peso del grupo de los pulpos pequeños alimentados con la dieta seca y que incremento de $858 \pm 46g$ a $947 \pm 103g$. Al inicio del ensayo no había diferencias entre el peso medio de los grupos de los pulpos medianos. Los grupos de dieta fresca y húmeda sí crecieron significativamente ($p < 0.05$) de $1063 \pm 150g$ a $2167 \pm 492g$ y $1080 \pm 67g$ a $1686 \pm 200g$ respectivamente. Durante el ensayo, se dieron diferencias en el peso del grupo de pulpos medianos alimentados con el dieta seca y que incrementó de $1097 \pm 80g$ a $1138 \pm 128g$. Al final de ensayo del grupo de pulpos alimentados con el dieta fresca fue significativamente ($P < 0.05$) más grande que los pulpos alimentados con el dieta húmeda, lo cual fue significativamente ($P < 0.05$) más grande que los pulpos alimentados con el dieta seca. Al inicio del ensayo no había diferencias entre el peso medio de los grupos de los pulpos medianos grandes. Los grupos de dieta fresca y húmeda sí crecieron significativamente ($p < 0.05$) de $1330 \pm 129g$ a $2743 \pm 267g$ y $1428 \pm 122g$ a $1963 \pm 553g$ respectivamente. Durante el ensayo, no hubo diferencias en el peso del grupo de pulpos medianas alimentados con el dieta seca y que incremento de $1313 \pm 182g$ a $1578 \pm 268g$. Al final de ensayo el grupo de pulpos alimentado con el dieta fresca fue significativamente ($P < 0.05$) más grande que los pulpos alimentados con el dieta húmeda y no hubo diferencias entre el grupo de pulpos alimentados con la dieta húmeda y el grupo alimentado con el dieta seca.

Crecimiento pulpos pequeños

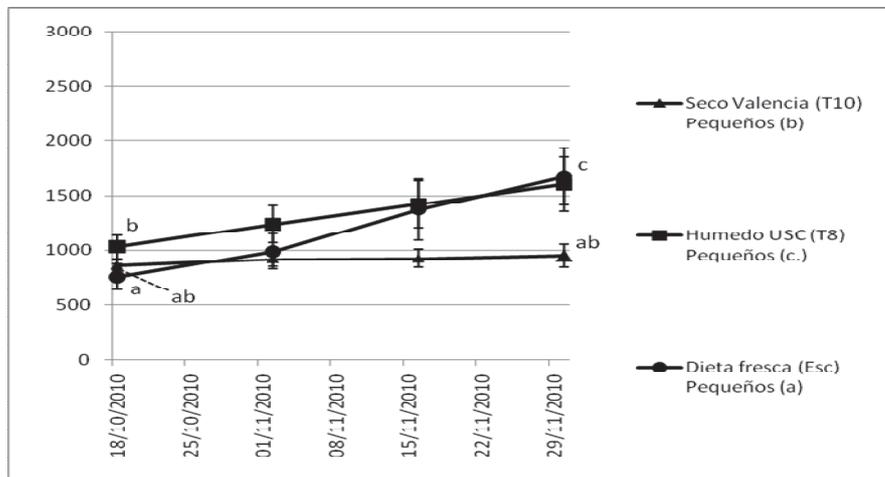


Figura A. Peso durante el ensayo de engorde (18/10/2010 a 30/11/2010) de pulpos (*Octopus vulgaris*) seleccionados por un talla pequeña (entre 580 a 1155g) y alimentados con tres dietas: dieta fresca (círculo), dieta húmeda (cuadrado) y una dieta seca (triángulo). Diferentes letras indican diferencias significativos ($P < 0.05$).

Crecimiento pulpos medianos

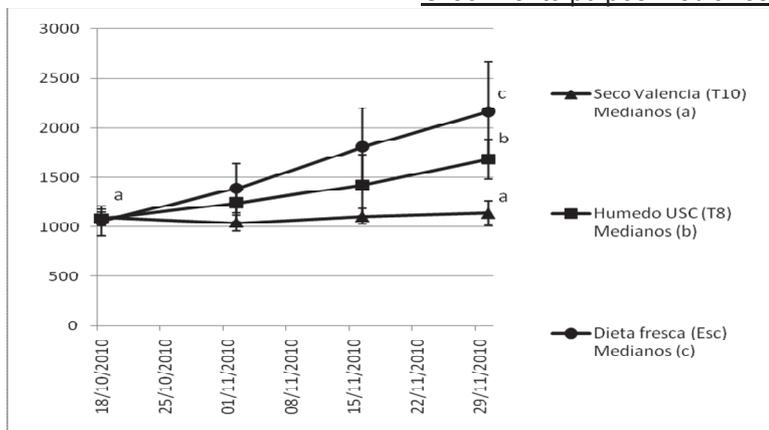


Figura B. Peso durante el ensayo de engorde (18/10/2010 a 30/11/2010) de pulpos (*Octopus vulgaris*) seleccionados por un talla mediana (entre 860 a 1255g) y alimentados con tres dietas: dieta fresca (círculo), dieta húmeda (cuadrado) y una dieta seca (triángulo). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Crecimiento pulpos grandes

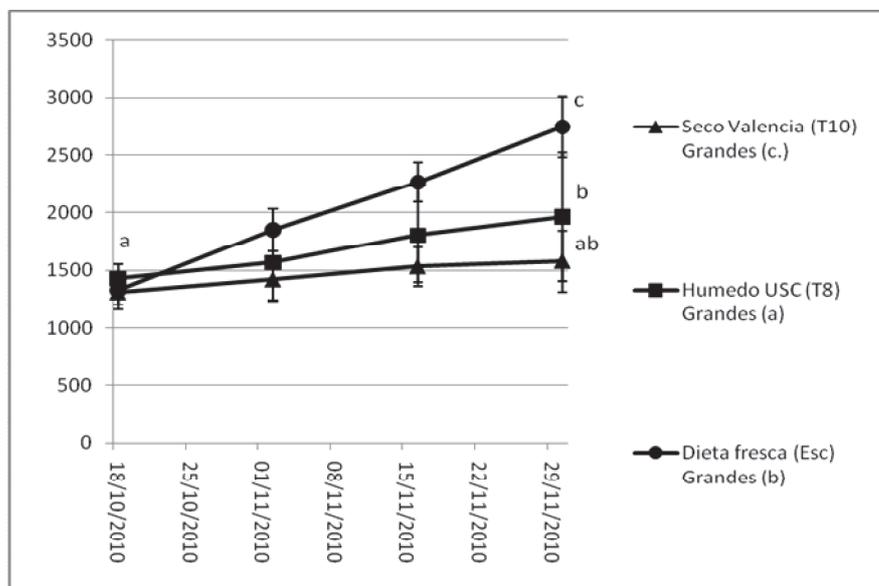


Figura C. Peso durante el ensayo de engorde (18/10/2010 a 30/11/2010) de pulpos (*Octopus vulgaris*) seleccionados por un talla grande (entre 1105 a 1580g) y alimentados con tres dietas, dieta fresca (círculo), dieta húmeda (cuadrado) y una dieta seco (triángulo). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

3.2. Optimización de parámetros de engorde en tanques.

3.2.1. Desarrollo de ecuaciones para estimar el caudal en tanques de engorde de pulpo de roca (*Octopus vulgaris*).

IMIDA, C.A. de Murcia.

1. Resumen.

Basándonos en el conocimiento existente sobre los requerimientos de oxígeno del pulpo de roca, así como su comportamiento respiratorio y la producción de amonio se han desarrollado dos ecuaciones para estimar el caudal en relación a la biomasa tanto teniendo en cuenta los requerimientos de oxígeno de la especie y los niveles óptimos de oxígeno disuelto (Q_O , l kg⁻¹ h), como para eliminar el amoniaco producido (Q_N , l kg⁻¹ h). Ecuación 1: $\ln Q_O = 9.70 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 0.15 \ln T$ ($R^2=0.99$), donde P es el peso coporal (0.5 a 3.5kg), SO_e (nivel de saturación de oxígeno del agua de entrada al tanque, 100-200% de saturación) y T la temperatura (16-24°C). Ecuación 2 $\ln Q_N = -37.39 + 17.40 \ln pH - 1.00 \ln LT$ ($R^2=0.99$), donde pH es la medida de pH (7-8.5) y LT la concentración máxima tolerable de N-NH₃ que aún no está definida para esta especie (0.001-0.1 mg l⁻¹). Para determinar en que condiciones es apropiado estimar los caudales con una u otra ecuación (Q_O o Q_N), se analizó la situación de igualdad, es decir $Q_O=Q_N$, y despejando el pH: Ecuación 3 $\ln pH = (49.99 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 1.00 \ln LT) / 17.40$, de tal manera que cuando los valores de pH medidos son superiores a los estimados por esta última ecuación, entonces las necesidades de caudal de agua son superiores para eliminar el amoniaco que para suministrar oxígeno, es decir $Q_N > Q_O$, por lo que el caudal se debe estimar con la ecuación 2 (Q_N).

2. Introducción.

El flujo de agua a través de un sistema de cultivo (un tanque por ejemplo) tiene que garantizar el aporte de oxígeno para los requerimientos metabólicos de los ejemplares, pero también mantener unos niveles de concentración de oxígeno óptimo y no limitante de la producción. Por otro lado este flujo de agua tiene que garantizar la eliminación de los productos nitrogenados. No obstante, por lo general, son los requerimientos de oxígeno los que realmente deciden el caudal necesario en cada momento. Sin embargo, cuando el agua de entrada al tanque se sobresatura de oxígeno, lo cual permite reducir los caudales, puede ocurrir que sean los productos nitrogenados los que decidan el cálculo del caudal necesario.

Para el pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) se han desarrollado ecuaciones de los requerimientos de oxígeno (Cerezo Valverde y García García, 2004), comportamiento respiratorio (Cerezo Valverde y García García, 2005 y de producción de amonio (García García et al., en prensa) que permiten estimar los caudales necesarios en distintas condiciones que se pueden presentar en el engorde de esta especie en tanques. No obstante, aunque los cálculos de caudales son simples pueden resultar tediosos, ya que hay que tener en cuenta también otros factores como la solubilidad del oxígeno disuelto, el equilibrio químico del amoniaco en disolución o los límites tolerables de N-NH₃. Por ello, en el presente trabajo se han desarrollado unas ecuaciones sencillas para estimar el caudal de agua en función de los requerimientos de oxígeno y en función de la

eliminación del amoníaco, aportando también a partir de estas ecuaciones tablas y figuras con estimaciones de caudales.

3. Cálculo de caudales en función de los requerimientos de oxígeno.

3.1. Planteamiento.

El caudal de agua se calcula a partir de los requerimientos de oxígeno de la especie según la fórmula siguiente:

$$Q_0 = CO / (O_e - O_s)$$

Donde Q_0 es el caudal de agua ($l \text{ kg}^{-1} \text{ h}$), CO es el consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}$), O_e es la concentración de oxígeno del agua de entrada al tanque ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1}$) y O_s es la concentración de oxígeno del agua de salida del tanque ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1}$).

El CO depende de numerosos factores, pero en sistemas de acuicultura dependen fundamentalmente del peso de los ejemplares, la temperatura del agua y la alimentación. A lo largo del día y para ejemplares de un mismo peso y sometidos a una misma temperatura el CO varía ampliamente, lo cual ha sido estudiado en el pulpo por Cerezo Valverde y García García (2004). Se pueden destacar aquí al menos tres niveles: consumo de oxígeno en reposo cuando los ejemplares no son alimentados (COR), consumo de oxígeno máximo debido a la alimentación ($COMAX$) y el consumo de oxígeno medio diario ($COMD$). La relación entre estos tres niveles es constante, por lo que a partir de uno de ellos podemos estimar los otros multiplicando por un factor. A efectos de cálculo de caudales parece más interesante trabajar con el consumo de oxígeno medio diario, que se relaciona con el peso y la temperatura mediante la siguiente ecuación:

$$\ln CO_{MD} = 0.220 + 0.716 \ln P + 1.688 \ln T$$

No obstante, la relación $COR/COMD$ es 0.66, la relación $COMAX/COMD$ es 1.17 y la relación $COMAX/COR$ es 2.00.

O_e en un sistema de cultivo puede corresponderse normalmente con el 100% de saturación. Ahora bien, los miligramos de oxígeno que suponen el 100% de saturación varían en función de la presión atmosférica (ley de Henry) y de la salinidad y la temperatura según la ecuación de Weiss (1970):

$$O(S) = A_1 + A_2(100/T_{abs}) + A_3(\ln T_{abs}/100) + A_4(T_{abs}/100) + \text{Sal}[B_1 + B_2(T_{abs}/100) + B_3(T_{abs}/100)^2]$$

Donde $O(S)$ es la solubilidad o concentración de saturación de oxígeno (ml l^{-1}); T_{abs} es la temperatura absoluta del agua en grados Kelvin ($^{\circ}\text{C} + 273.15$), Sal es la salinidad (‰), $A_1 = -173.4292$, $A_2 = 249.6339$, $A_3 = 143.3483$, $A_4 = -21.8492$, $B_1 = -0.033096$, $B_2 = 0.014259$, $B_3 = -0.0017$.

Dado que el pulpo de roca es una especie estenohalina aquí trabajaremos con una salinidad constante del 38 mg l^{-1} . Por otro lado como las plantas de engorde de pulpo, tanto experimentales como industriales, lo normal es que se sitúen a nivel del mar trabajaremos con una presión atmosférica de 1 atmósfera. Por tanto sólo tendremos en cuenta las variaciones de solubilidad del oxígeno en función de la temperatura.

La concentración de oxígeno del agua de salida del tanque (O_s) tiene que garantizar que la concentración de oxígeno en el tanque este dentro del rango óptimo de la especie y no sea un factor limitante de la producción. Cerezo Valverde y García García (2005) estudiaron el comportamiento respiratorio del pulpo frente a una disminución del nivel de saturación, midiendo el

consumo de oxígeno y la frecuencia ventilación, para un rango amplio de pesos corporales y temperatura. A partir de los resultados establecieron tres niveles de concentración de oxígeno (Figura 1). En el rango “óptimo” no se modifica ni la frecuencia de ventilación ni el consumo de oxígeno, en el rango de “precaución” se modifica la frecuencia de ventilación, y en el de “peligroso” se modifican ambos. Estos rangos dependen de la temperatura, así para el primero se puede expresar mediante la ecuación

$$Svf = -0,033 + 3,257T$$

donde Sv_f es el valor de saturación de oxígeno (%) al cual se modifica la frecuencia de ventilación y T la temperatura (°C). Teniendo en cuenta esto O_s puede variar desde 48% a 15°C y 74% a 24°C.

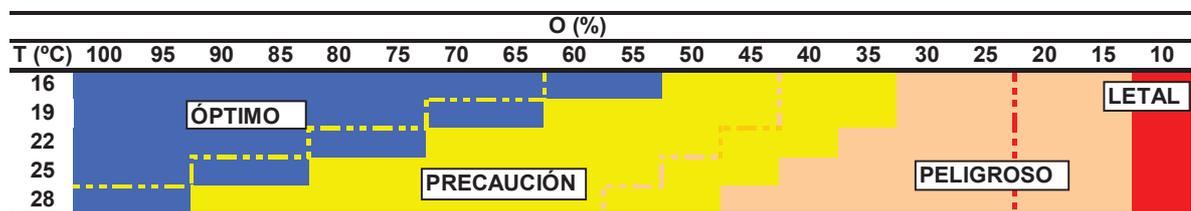


Figura 1. Niveles de concentración óptima de oxígeno disuelto en función de la temperatura, en el pulpo (Cerezo Valverde y García García, 2005).

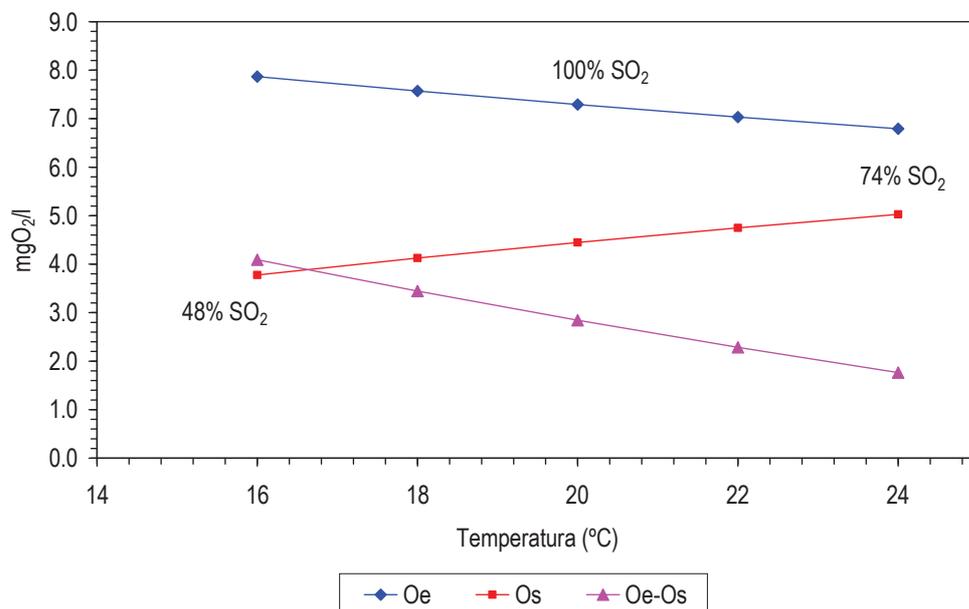


Figura 2. Variación del oxígeno disponible para el cultivo (O_e-O_s) en función de la disminución de solubilidad del oxígeno con la temperatura en el agua de entrada al tanque (O_e) y con el aumento del nivel mínimo (Sv_f) para mantener unas condiciones óptimas a la salida del tanque (O_s).

La temperatura juega un papel muy importante a la hora de estimar los caudales. Es importante destacar que al aumentar la temperatura disminuye la solubilidad del oxígeno, por lo que

cada litro de agua que entra al tanque proporciona una menor cantidad de oxígeno, y por otro lado, los niveles de oxígeno a la salida del tanque deben incrementarse para mantenerlos en los niveles óptimos. Consiguientemente, y como se muestra en la Figura 2, el oxígeno disponible por litro de agua para los pulpos en cultivo disminuye de forma muy significativa con la temperatura; a 16°C cada litro de agua aporta 4.09 mg de O₂ para los requerimientos del pulpo, mientras que a 24°C solo aporta 1.76 mg.

3.2. Desarrollo de la ecuación.

El caudal medio diario (Q₀, l kg⁻¹ h) se calculó, por consiguiente, para 11 pesos corporales desde 0.5 a 3.5 kg, para cada uno de esos pesos para 5 temperaturas (16-24°C) y para 8 valores de saturación de oxígeno a la entrada del tanque (SO_e: 100-200% de saturación de oxígeno). Por tanto se generaron 385 valores de Q₀ en función de P, T y SO_e que se ajustaron mediante el análisis de regresión múltiple a la siguiente ecuación:

$$\ln Q_0 = \ln a + b \ln P + c \ln SO_e + dT$$

3.3. Estimación de caudales.

El ajuste de los datos a dicho modelo fue muy alto (R²=0.99), próximo a 1, por consiguiente el caudal de agua en función de los requerimientos de oxígeno se puede estimar mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 1: } \ln Q_0 = 9.70 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 0.15 \ln T \quad (R^2=0.99)$$

En la Tabla 1 se muestran las estimaciones de caudales en función del peso y de la temperatura y para distintos niveles de saturación de oxígeno del agua de entrada al tanque (SO_e). En la Figura 3 se muestran los caudales estimados en función del peso y la temperatura para un nivel de saturación de oxígeno de entrada del 100% y en la Figura 4 el caudal estimado en función del nivel de saturación y del peso corporal para una temperatura de 18°C. El caudal aumenta con la temperatura y disminuye con el peso corporal y con la saturación de oxígeno. El caudal de agua a lo largo del día puede no obstante regularse. El consumo de oxígeno varía fundamentalmente debido a la alimentación, de hecho tras ser alimentados los pulpos su consumo de oxígeno se incrementa sobre el nivel de reposo durante unas 20 horas hasta alcanzar un valor máximo, aproximadamente a las 10 horas de ingerir el alimento (Cerezo Valverde y García García, 2005), que es 2 veces superior. La ecuación 1 la hemos desarrollado a partir del consumo de oxígeno medio diario, pero si queremos estimar el caudal necesario en reposo, cuando los pulpos no son alimentados, hay que utilizar un factor de 0.66 y si queremos estimar el valor máximo que se puede alcanzar tras la alimentación el factor es 1.17.

Tabla 1. Caudales estimados (Q_0 , l kg⁻¹ h) en función de la temperatura (T °C) y el peso corporal (P kg), para distintos niveles de saturación de oxígeno del agua de entrada al tanque.

Peso (kg)/Temperatura	16°C	18°C	20°C	22°C	24°C
SOe=100%					
0.5	43.24	58.69	79.66	108.14	146.78
0.6	41.06	55.73	75.64	102.68	139.38
0.8	37.83	51.36	69.71	94.62	128.44
1.0	35.51	48.20	65.43	88.81	120.55
2.0	29.17	39.59	53.74	72.94	99.01
3.5	24.88	33.77	45.84	62.22	84.46
SOe=120%					
0.5	30.79	41.79	56.73	77.00	104.52
0.6	29.24	39.68	53.87	73.12	99.25
0.8	26.94	36.57	49.64	67.38	91.46
1.0	25.29	34.33	46.59	63.24	85.85
2.0	20.77	28.19	38.27	51.94	70.51
3.5	17.72	24.05	32.64	44.31	60.15
SOe=140%					
0.5	23.11	31.36	42.57	57.79	78.44
0.6	21.94	29.78	40.43	54.87	74.48
0.8	20.22	27.45	37.25	50.57	68.64
1.0	18.98	25.76	34.97	47.46	64.43
2.0	15.59	21.16	28.72	38.98	52.91
3.5	13.30	18.05	24.50	33.25	45.14
SOe=160%					
0.5	18.02	24.46	33.20	45.07	61.17
0.6	17.11	23.23	31.53	42.79	58.09
0.8	15.77	21.40	29.05	39.43	53.53
1.0	14.80	20.09	27.27	37.01	50.24
2.0	12.16	16.50	22.40	30.40	41.26
3.5	10.37	14.07	19.10	25.93	35.20
SOe=180%					
0.5	14.47	19.64	26.66	36.19	49.12
0.6	13.74	18.65	25.32	34.36	46.65
0.8	12.66	17.19	23.33	31.67	42.99
1.0	11.88	16.13	21.90	29.72	40.35
2.0	9.76	13.25	17.98	24.41	33.14
3.5	8.33	11.30	15.34	20.82	28.27
SOe=200%					
0.5	11.89	16.14	21.91	29.74	40.37
0.6	11.29	15.33	20.81	28.24	38.34
0.8	10.41	14.13	19.17	26.03	35.33
1.0	9.77	13.26	18.00	24.43	33.16
2.0	8.02	10.89	14.78	20.06	27.23
3.5	6.84	9.29	12.61	17.11	23.23

Estimaciones ecuación 1: $\ln Q_0 = 9.70 - 0,28 \ln P - 1,86 \ln SOe + 0,15 \ln T$

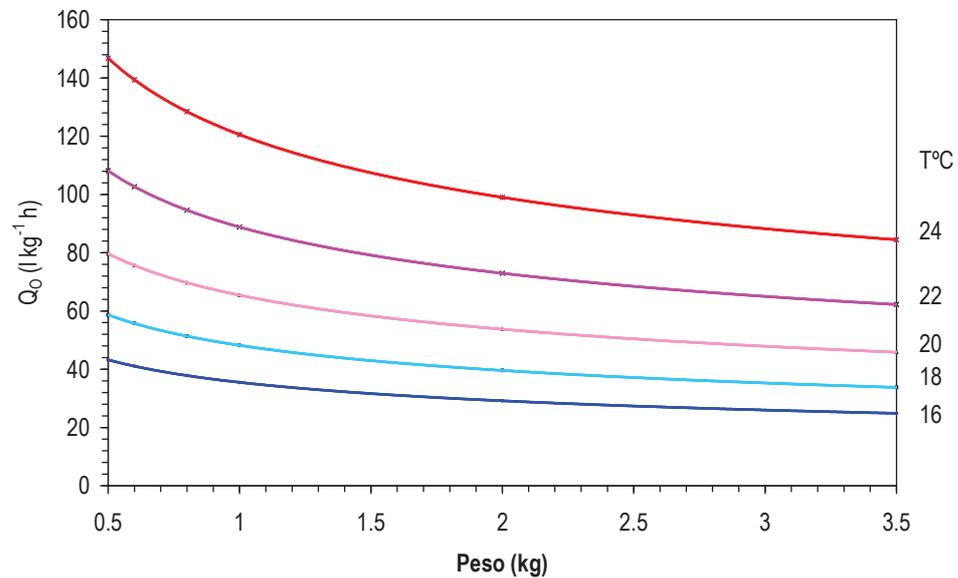


Figura 3. Estimación del caudal de agua (Q_o) en función del peso corporal del pulpo y la temperatura del agua para un nivel de saturación de oxígeno del agua de entrada al tanque del 100%. Ecuación 1: $\ln Q_o = 9.70 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 0.15 \ln T$.

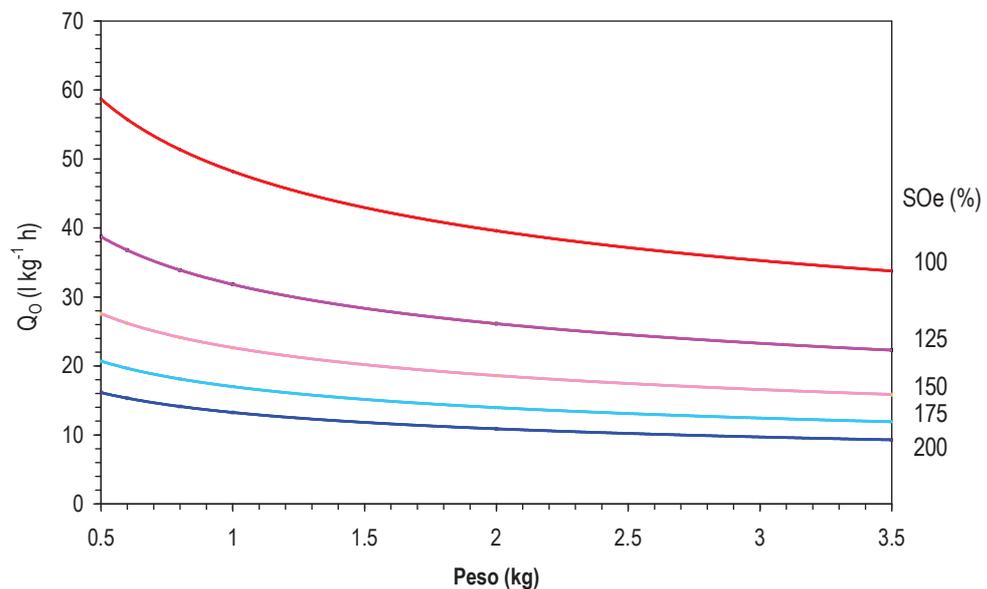


Figura 4. Estimación del caudal de agua (Q_o) en función del peso corporal del pulpo y el nivel de saturación de oxígeno del agua de entrada al tanque para una temperatura de 18°C. Ecuación 1: $\ln Q_o = 9.70 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 0.15 \ln T$.

4. Cálculo de caudales en función del N-NH₃.

4.1. Planteamiento.

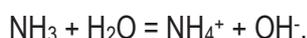
El agua que circula a través del tanque tiene que retirar los productos nitrogenados particularmente el amoníaco producidos por excreción y que su concentración se mantenga por debajo de los límites tolerables por la especie. El caudal se puede calcular por tanto como:

$$Q_N = U_r / LT$$

Donde U_r es la tasa de excreción expresada en mg TAN kg⁻¹ h, LT es la máxima concentración tolerable por la especie en mg N-NH₃ l⁻¹.

La tasa de excreción en pulpo en función del peso corporal y la ingesta de proteína para una temperatura de 19°C ha sido estudiada por García García et al. (en prensa), que establecieron la siguiente ecuación: $U = 13.9122 + 0.0699W + 0.0201WAPFR$, donde U es la tasa de excreción absoluta expresada en mg TAN día (TAN: N-NH₃ + N-NH₄⁺, nitrógeno total amoniacal), W el peso corporal en g y WAPFR la ingesta de proteína en g. La ingesta diaria de proteína para que el crecimiento sea máximo en esta especie es de 9 g (García García y Cerezo Valverde, 2006). Aunque U depende significativamente del peso, U_r para un mismo nivel de ingesta de proteína disminuye con el peso pero en un rango muy estrecho, concretamente de 11,61 a 10,62 mg TAN Kg⁻¹ h para pesos corporales de 0,5 a 3,5 kg, se puede considerar un valor promedio de 10,88.

El amoníaco disuelto es una base débil que asume dos especies químicas en equilibrio, representadas por la siguiente reacción química:



siendo el NH₃ la forma tóxica y el porcentaje presente de esta depende la temperatura, el pH y la salinidad, y se puede calcular mediante la expresión siguiente:

$$\%N-NH_3 = 100 / (1 + \text{antilog}(pK - pH)),$$

donde pK es la constante de acidez para la reacción citada y pH la medida de pH de la solución. El pK se calcula como una función de temperatura y salinidad (Khoo et al., 1977) mediante la expresión siguiente:

$$pK = 0.09018 + 2729.92 / (T + 273.1) + (0.1552 - 0.000314T)I$$

donde T representa la temperatura (°C), S la salinidad en partes por mil (‰) e I la fuerza iónica (molal) que a su vez se calcula como:

$$I = 19.973S / (1000 - 1.2005109S)$$

En base a estas relaciones según aumenta el pH y la temperatura incrementa la concentración de la forma tóxica no ionizada (N-NH₃), y disminuye según aumenta la salinidad. No obstante, los mayores cambios en el desplazamiento de una forma a otra son debidos al pH y concretamente cuando este cambia de 6 (N-NH₃ representa sólo el 0.03 %) a 11 (representa el 96%).

La máxima concentración N-NH₃ tolerable por la especie (LT) no ha sido estudiada en el pulpo. No obstante, Gómez et al. (2005) encuentran que la tasa de excreción se modifica para

valores superiores a 0.0152 mg l⁻¹. Por otro lado, y dada la escasa información para cefalópodos, Tucker (1998) recomienda como límite seguro para larvas de peces 0.029 mg l⁻¹ y 0.07 mg l⁻¹ para adultos. Así pues, para el pulpo se podría considerar como límite seguro una concentración de 0.01 mg l⁻¹.

4.2. Desarrollo de la ecuación de caudales.

Por todo ello, los cálculos de caudales para asegurar la eliminación del N-NH₃, se ha realizado suponiendo una ingesta diaria de 9 g de proteína, a una temperatura de 19°C y una salinidad de 38‰. Los valores de pH se ha variado entre 7 y 8.5 (8 valores), ya que son los límites recomendados para la cría de peces por Tucker (1998); y la concentración máxima tolerable de N-NH₃, al ser un parámetro de gran importancia pero no estar documentado, se ha variado entre 0.001 y 0.1 mg l⁻¹ (8 valores). Por consiguiente en total se calcularon 64 supuestos que se ajustaron mediante el análisis de regresión múltiple al modelo: $\ln Q_N = \ln e + f \ln pH + g \ln LT$.

4.3. Estimación de caudales.

El ajuste de los datos a dicho modelo fue muy alto (R²=0,99), próximo a 1, por consiguiente el caudal de agua en función de la eliminación del N-NH₃ se puede estimar mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 2: } \ln Q_N = -37,39 + 17,40 \ln pH - 1,00 \ln LT \quad (R^2=0,99)$$

En la Tabla 2 y en la Figura 5 se muestran los caudales estimados para eliminar el amoníaco en función del pH y del límite tolerable que se considere para esta especie. El caudal aumenta con el pH y con el límite tolerable de amoníaco.

Tabla 2. Estimación de caudales de agua para la eliminación del amoníaco (Q_N, l kg⁻¹ h) en función del pH y el límite tolerable (LT, mg N-NH₃ l⁻¹) que se estime para el pulpo.

ph/LT	0.005	0.01	0.05	0.1
7	5.85	2.92	0.58	0.29
7.1	7.48	3.74	0.75	0.37
7.2	9.54	4.77	0.95	0.48
7.3	12.13	6.06	1.21	0.61
7.4	15.37	7.68	1.54	0.77
7.5	19.41	9.71	1.94	0.97
7.6	24.44	12.22	2.44	1.22
7.7	30.69	15.34	3.07	1.53
7.8	38.41	19.20	3.84	1.92
7.9	47.94	23.97	4.79	2.40
8	59.66	29.83	5.96	2.98
8.1	74.06	37.03	7.40	3.70
8.2	91.68	45.84	9.17	4.58
8.3	113.20	56.60	11.32	5.66
8.4	139.43	69.71	13.94	6.97
8.5	171.30	85.64	17.12	8.56

$$\text{Ecuación 2: } \ln Q_N = -37,39 + 17,40 \ln pH - 1,00 \ln LT$$

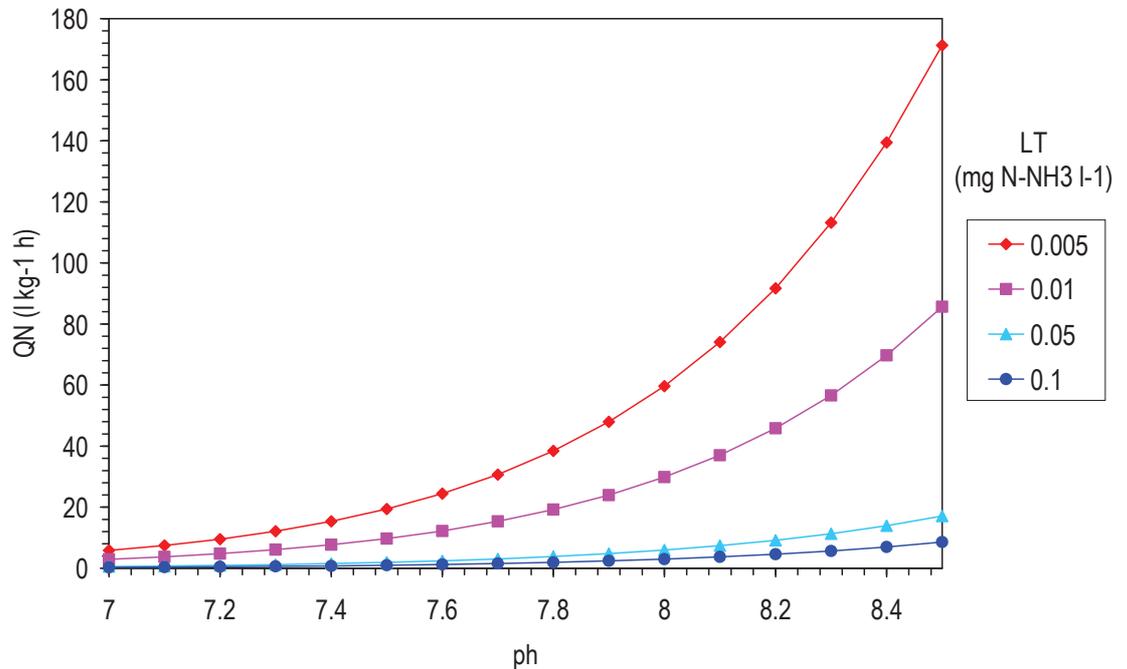


Figura 5. Estimación de caudales de agua para la eliminación del amoníaco (Q_N , l kg⁻¹ h) en función del pH y el límite tolerable (LT, mg N-NH₃ l⁻¹) que se estime para el pulpo.

4. ¿Qué ecuación utilizar?.

Para determinar en que condiciones es apropiado estimar los caudales con una u otra ecuación (Q_O o Q_N), se analizó la situación de igualdad, es decir $Q_O=Q_N$, por tanto:

$$\ln a + b \ln P + c \ln SO_e + cT = \ln e + f \ln pH + g \ln LT.$$

En principio, y observando las Tablas 1 y 2 las circunstancias que favorecen que $Q_O < Q_N$ se pueden producir para pH altos, para SO_e altos, y LT bajos, por tanto, para una temperatura de 19°C despejando el término de pH:

$$\ln pH = (\ln a + b \ln P + c \ln SO_e + dT - \ln e - g \ln LT) / f$$

se obtiene:

$$\text{Ecuación 3: } \ln pH = (49.99 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 1.00 \ln LT) / 17.40$$

A partir de esta ecuación se ha construido la Tabla 3 y la Figura 6. En ambos caso se muestran los valores de pH para los que $Q_O=Q_N$. Cuando en unas determinadas condiciones los valores de pH medidos son superiores a los estimados por la ecuación 3, entonces las necesidades de caudal de agua son superiores para eliminar el amoníaco que para suministrar oxígeno, es decir $Q_N > Q_O$, por lo que el caudal se debe estimar con la ecuación 2 (Q_N).

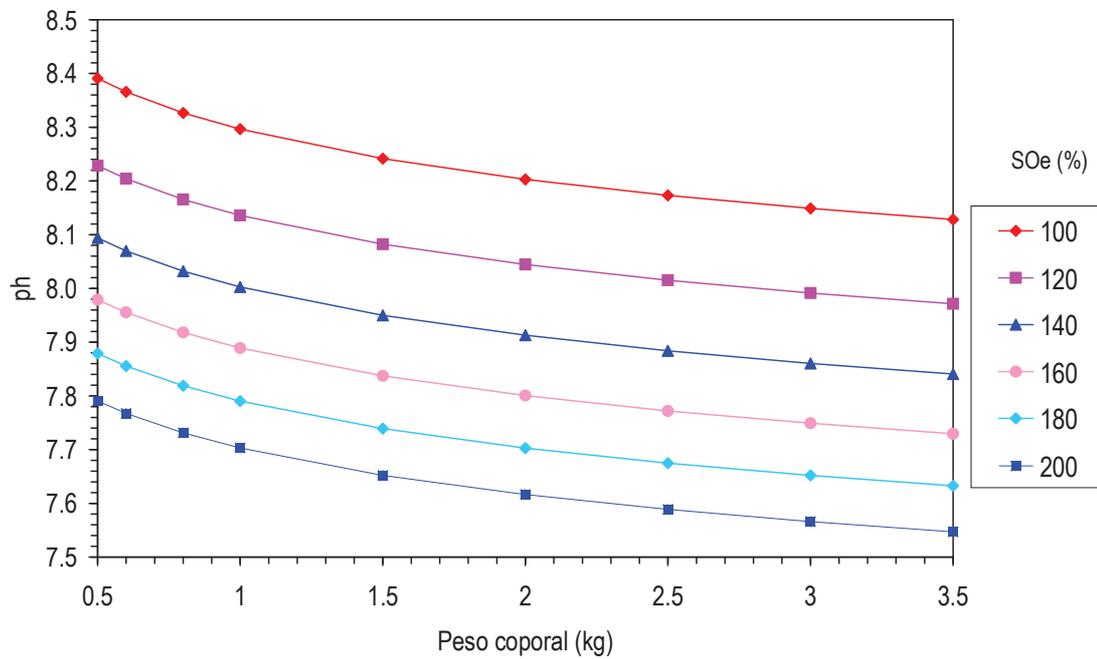


Figura 6. Valores de pH para los que $Q_0=Q_N$, en función del nivel de saturación de oxígeno (SO_e , %) a la entrada del tanque y el peso de los pulpos (P , kg) y para un valor de límites tolerables de $N-NH_3$ de $0,01 \text{ mg l}^{-1}$ y a 19°C , Si el valor de pH medido es superior al estimado entonces $Q_0 < Q_N$ y el caudal debe ser calculado con la Ecuación 2: $\ln Q_N = -37,39 + 17,40 \ln pH - 1,00 \ln LT$.

Tabla 3. Valores de ph para los que $Q_O=Q_N$ en función del nivel de saturación de oxígeno (SO_e , %) a la entrada del tanque, el peso de los pulpos (P , kg) y para distintos valores de límites tolerables de $N-NH_3$ ($mg\ l^{-1}$) y a $19^\circ C$, Si el valor de ph medido es superior al estimado entonces $Q_O < Q_N$ y el caudal debe ser calculado con Ecuación 2: $\ln Q_N = -37.39 + 17.40 \ln pH - 1.00 \ln LT$

SO_e/P	0.5	0.6	0.8	1.0	2.0	3.5
LT=0.005						
100	8.06	8.04	8.00	7.97	7.88	7.81
120	7.91	7.88	7.85	7.82	7.73	7.66
140	7.78	7.75	7.72	7.69	7.60	7.53
160	7.67	7.64	7.61	7.58	7.50	7.43
180	7.57	7.55	7.51	7.49	7.40	7.33
200	7.49	7.46	7.43	7.40	7.32	7.25
LT=0.01						
100	9.58	9.55	9.51	9.47	9.36	9.28
120	9.39	9.37	9.32	9.29	9.18	9.10
140	9.24	9.21	9.17	9.14	9.03	8.95
160	9.11	9.08	9.04	9.01	8.90	8.82
180	8.99	8.97	8.93	8.89	8.79	8.71
200	8.89	8.87	8.83	8.79	8.69	8.62
LT=0.05						
100	9.20	9.18	9.13	9.10	9.00	8.92
120	9.03	9.00	8.96	8.92	8.82	8.74
140	8.88	8.85	8.81	8.78	8.68	8.60
160	8.75	8.73	8.69	8.65	8.56	8.48
180	8.64	8.62	8.58	8.55	8.45	8.37
200	8.55	8.52	8.48	8.45	8.35	8.28
LT=0.1						
100	9.58	9.55	9.51	9.47	9.36	9.28
120	9.39	9.37	9.32	9.29	9.18	9.10
140	9.24	9.21	9.17	9.14	9.03	8.95
160	9.11	9.08	9.04	9.01	8.90	8.82
180	8.99	8.97	8.93	8.89	8.79	8.71
200	8.89	8.87	8.83	8.79	8.69	8.62

Ecuación 3: $\ln ph = (49.99 - 0.28 \ln P - 1.86 \ln SO_e + 1.00 \ln LT) / 17.40$

Bibliografía.

- Cerezo Valverde, J., García García, B. 2005. Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) at different weights and temperatures: analysis of respiratory behavior. *Aquaculture* 244(1-4): 303-314.
- Cerezo Valverde, J., García García, B. 2004. Influence of body weight and temperature on post-prandial oxygen consumption of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 233: 599-613.
- Gómez, E.; Mazón, M.J., Piedecausa, M.A., García García, B., 2005. Efecto de la concentración de amoníaco total sobre la tasa de excreción en el pulpo de roca (*Octopus vulgaris* L): resultados preliminares. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía del 17-21 de Octubre de 2005.

- Khoo, K.H., Culberson, C.H., Bates, R.G. 1977. Thermodynamics of the dissociation of ammonium ion in sea water from 5 to 40°C. *J. Soln. Chem.* 6: 281-290.
- Tucker, J.W., 1998. The rearing environment. In: Tucker JW (ed) *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Weiss, R.F., 1970. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. *Deep Sea Research* 17, 721-735.

3.2.2. Régimen de temperaturas.

IRTA, C.A. de Cataluña.

Material y Métodos.

Se realizaron dos pruebas de engorde en tanque en tierra de *O. vulgaris*, con entrada de agua procedente directamente de la bahía de Alfac (Delta del Ebro), en dos épocas diferentes del año. La prueba 1 (periodo primavera-verano) se inició el 8 de mayo y tuvo una duración de 84 días. La prueba 2 (otoño-invierno) se inició el 29 de septiembre y finalizó 151 días después.

En ambas pruebas se dispuso de un tanque de 1.500l. de capacidad, en circuito abierto y con drenaje inferior, con un caudal inicial de 1 renovación/hora, y aeración continua. Se diseñó una estructura con 16 refugios en disposición radial y con apertura del refugio hacia la pared del tanque (fig. 4).



Figura 4. Detalle del tanque de cultivo, refugios en disposición radial.

Para evitar el efecto que, sobre el crecimiento, tiene el proceso reproductivo y su consiguiente elevado coste energético, (O'Dor and Wells, 1978), se realizó el engorde sólo con machos. Se dispuso inicialmente de 17 juveniles en cada prueba, con peso medio de $731,7 \pm 325,9$ g en la prueba 1 y de $702,0 \pm 279,3$ g en la prueba 2.

Se realizó un seguimiento diario de temperatura y oxígeno (a las 8:00h y 15:00h), y 3 veces por semana de pH y amonio. En todo momento se garantizaron niveles de oxígeno superiores al 75% de saturación.

Los pulpos fueron alimentados hasta saciedad. Se suministró una dieta compuesta por boga (*Boops boops*) y cangrejo (*Carcinus sp.*) en proporción 1:1, 6 días a la semana, basándonos en los óptimos resultados aportados por García-García y Cerezo (2005). Diariamente, se calculó el alimento ingerido (AI) como diferencia entre el peso del alimento suministrado y peso de los restos de alimento recogido. Se realizaron muestreos cada 20 días destinados al estudio del crecimiento y supervivencia (S, %). Se calcularon los siguientes índices:

- Índice de conversión: $(AI_{total}/\Delta Bmt)$
- Tasa de alimentación relativa (%) (TAR): $(AI/Bm)*100$
- Tasa de crecimiento absoluta (TCA): $Pf-Pi/t$
- Tasa de crecimiento específica (TEC): $(\ln Pf - \ln Pi)*100/t$

Donde, ΔBmt es el incremento en biomasa correspondiente a toda la prueba; AI_{total} es la cantidad total de alimento ingerido correspondiente a toda la prueba; Bm es la biomasa media del tanque semanal; AI es la cantidad media de alimento ingerido semanal; Pf es el peso medio final (g) y Pi es el peso medio inicial (g), para periodos comprendidos entre muestreos, y t es el tiempo en días.

Resultados

En la figura 5 se presentan valores medios semanales de temperatura y TAR, y la evolución del peso medio de los pulpos para ambas pruebas experimentales.

La prueba 1 (primavera-verano) se inició con una temperatura de 19,6°C, y finaliza 84 días más tarde debido a la alta mortalidad registrada una vez se sobrepasa los 28°C (88%). La prueba 2 (otoño-invierno) se prolonga más en el tiempo, iniciándose a 23,5°C y finalizando 151 días después, sin que se supere el 47% de mortalidad acumulada. En esta segunda prueba se llegan a registrar temperaturas por debajo de los 10°C en dos ocasiones, en los periodos que van del 23.dic. al 01.en (día 78) y entre el 27.en. y 04.feb (día 119).

En la prueba 1, vemos que la tasa de alimentación relativa (TAR) mantiene una relación directa con la temperatura, cuando esta se encuentra en el rango comprendido entre los 19-23°C (valor máximo: 7.96%, día 31, T^a : 22,3°C). Una vez superado los 24°C, la TAR desciende conforme aumenta la temperatura, hasta alcanzar valores mínimos (en torno al 1%) para temperaturas de 28-29°C. En la prueba 2, la TAR se mantiene por encima del 5% los primeros 30 días de experiencia, en los que la temperatura oscila en torno a los 20°C. La TAR desciende a la par que la temperatura, llegándose a alcanzar valores inferiores al 2% por debajo de los 15°C. En los periodos con temperaturas entre 13 y 9°C, se observan valores mínimos de TAR (< 1%).

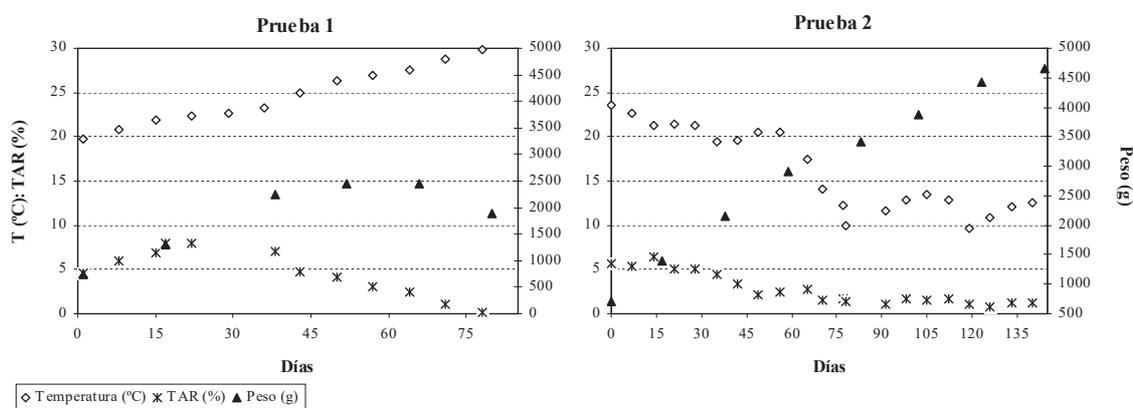


Figura 5. Evolución de la temperatura, tasa de alimentación relativa (TAR) y peso medio de *O. vulgaris* en ambas condiciones experimentales.

En cuanto a los datos de crecimiento (tabla 4)), en ambas pruebas y dentro del rango térmico comprendido entre 15-24°C, conforme crecen los pulpos aumentan los valores de TCA y decrecen los valores TEC, manteniéndose la TCA por encima de 30 y la TEC por encima de 1. Fuera de este rango térmico, los valores de TEC son inferiores a 1, llegando a alcanzar valores muy bajos, incluso negativos, a temperaturas muy elevadas (>28°C). Mientras que a temperaturas bajas (incluyendo periodos a 9-10°C) la TCA se mantiene en torno a 20 y la TEC alrededor a 0,65. Por último, los valores máximos de crecimiento (TCA y TEC) son superiores en la prueba 1 (primavera-verano) que a la prueba 2 (otoño-invierno), dentro del periodo térmico favorable.

Tabla 4. Evolución de los índices TCA (g/día), TEC (%) y supervivencia (S, %) en ambas pruebas, y para cada periodo entre muestreos. I.C global.

Prueba 1				Prueba 2			
I.C	4.07			I.C	3.07		
Nº días	TCA	TEC	S	Nº días	TCA	TEC	S
0			100	0			100
21	32.9	3.34	100	24	30.6	3.02	93
42	45.6	2.64	76	45	35.9	2.05	93
56	13.8	0.59	76	66	36.0	1.43	87
70	1.2	0.05	71	90	20.5	0.65	80
84	-40.9	-1.89	12	109	25.0	0.69	60
				130	25.6	0.62	53
				151	11.4	0.24	53

Siempre que la temperatura oscile dentro del rango comprendido entre 15 y 24°C, se obtienen resultados óptimos de crecimiento. El comportamiento de las tasas de ingestión (TAR) y de crecimiento (TCA y TEC) es similar al observado para esta especie por otros autores dentro de este rango térmico. En concreto, la tasa de alimentación relativa (TAR) se incrementa conforme aumenta la temperatura tal y como ya citó Mangold (1983) para *O. vulgaris*. Y en cuanto a los índices de crecimiento (TCA y TEC), observamos que a medida que se incrementa el peso, la TCA aumenta y la TEC disminuye, coincidiendo con lo descrito para *O. vulgaris* y otros organismos marinos (García-García y Aguado-Jiménez, 2002). En esos periodos, estos índices se mantienen por encima de 30 y 1.4, respectivamente, resultados que equivalen y superan los obtenidos por García-García y Cerezo (2005) en sus experiencias de engorde en tanque en tierra a 16,5°C y utilizando la misma dieta (TCA: 18,5 y TEC: 1,98).

Aguado-Gimenez y García-García (2002) proponen un rango térmico óptimo de crecimiento y alimentación más estrecho para *O. vulgaris* (16-21°C). Según estos autores, por encima de 23°C se producen pérdidas en peso y se registra mortalidad. Nuestros resultados amplían dicho rango óptimo de crecimiento e ingesta a 15-24°C, llegándose a obtener valores máximos de TCA a 24°C (45,6) y TAR a 22,3°C (7,96%) en la prueba 1. Fuera de este rango, es decir, por encima de los 24°C y por debajo de los 15°C, los valores de ingesta y crecimiento se ven seriamente comprometidos. De igual modo, se constata que temperaturas por encima de los 24°C resultan más perjudiciales que temperaturas inferiores a los 15°C. Así, a partir de los 24°C se produce una inevitable pérdida en peso y elevadas tasas de mortalidad, sobre todo cuando se alcanzan los 28-29°C, mientras que, descensos de temperatura (incluyendo periodos de más de una semana a 9-10°C) no conllevan pérdidas de peso y ni tasas de mortalidad acumulada tan altas. La temperatura,

a través de sus efectos sobre las tasas fisiológicas o el balance energético del organismo, determina en gran medida la energía disponible para crecimiento somático y/o reproducción. Los aumentos de temperatura aceleran los procesos fisiológicos (p.ej tasa de excreción, respiración,...) reduciendo la inversión en crecimiento somático, y explican las pérdidas en peso y mayores tasas de mortalidad registradas a altas temperaturas.

Las diferencias observadas entre pruebas, en lo que a valores máximos de ingesta y crecimiento se refiere, pueden quedar explicadas por la incidencia de otros factores, entre los que cabría destacar el fotoperiodo, el comportamiento social de la especie o el posible efecto del confinamiento.

Como conclusiones se proponen:

- Se proponen como épocas idóneas para el engorde del *O. vulgaris* las comprendidas en el rango térmico 15-24°C.
- Fuera de este rango de temperaturas, las tasas de alimentación y crecimiento se ven seriamente comprometidas.
- *O. vulgaris* es capaz de soportar mejor bajas temperaturas (<15°C, incluidos periodos a 9-10°C) que altas (>24°C).

3.2.3. Efecto de la densidad de cultivo en tanques.

3.2.2.1. Efecto de tres densidades de cultivo en el crecimiento y supervivencia del pulpo *O. vulgaris*, en tanques de 2 m³.

IFAPA Centro “Agua del Pino”. C.A. de Andalucía.

Introducción.

El pulpo *O. vulgaris* es una potencial especie para la diversificación en acuicultura. Su importancia económica y social es elevada (Vaz-Pires *et al.*, 2004), y su precio elevado. Además, las capturas han descendido globalmente (Globefish, 2006). El engorde de esta especie se hace presentemente en Galicia, (Iglesias *et al.*, 2007), con máximos en la producción (< 33 t) en 1998 y 1999 (García García, *et al.*, 2004). La producción anual descendió después a 14.6 t en 2001 (García García *et al.*, 2004) debido a la dependencia de juveniles capturados del medio natural y la inexistencia de piensos.

A pesar del interés creciente en el cultivo de esta especie, poca información se encuentra disponible sobre el efecto de las densidades en el cultivo. Densidades de cultivo altas proporcionaron tasas de crecimiento bajas fueron en otro cefalópodo, *Sepia officinalis*, (Domingues *et al.*, 2003; Correia *et al.*, 2005; Forsythe *et al.*, 2002), mientras Otero *et al.*, (1999) encontró diferencias en tasas de conversión de alimento para juveniles de *O. vulgaris* cultivados a 10 y 20 Kg/m³. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de distintas densidades de cultivo en el crecimiento y supervivencia de juveniles de pulpo, cultivados a temperaturas cercanas a los 20°C, más elevadas que las encontradas en la literatura para el cultivo de esta especie.

Material y métodos

Los pulpos utilizados en este estudio fueron capturados en la costa de Huelva (Sur de España) en Marzo de 2008, y comprados por el IFAPA “Centro Agua del Pino” (Cartaya, España). Los animales fueron aclimatados durante los 15 días anteriores al experimento.

Durante este experimento, los efectos sobre el crecimiento y supervivencia de *O. vulgaris* de las tres densidades de cultivo fueron analizados. Un total de 141 pulpos adultos (1175,4 ± 194,9 g) fueron distribuidos al azar en 9 tanques de 2000 L cada uno (3,6 m x 1,1 m, y 50 cm de columna de agua). En cada tanque se construyó una sólida estructura de hierro con un cubierta de malla, para prevenir el escape de los pulpos.

Tres tanques fueron clasificados como baja densidad inicial (control) de 4 Kg/m³ (7 animales en cada tanque), otro grupo de tres tanques fueron clasificados como densidad inicial de 8 Kg/m³ (14 animales en cada tanque), y los tres tanques restantes como densidad inicial de 15 Kg/m³ (aproximadamente 26 animales en cada tanque). Todos los pulpos fueron alimentados con calamar congelado (*Loligo gahi*) al 5% de su peso corporal por día (%BW d⁻¹) una vez al día a las 14:00 h. El alimento remanente fue recolectado de cada tanque y pesado en la mañana siguiente, previo a la

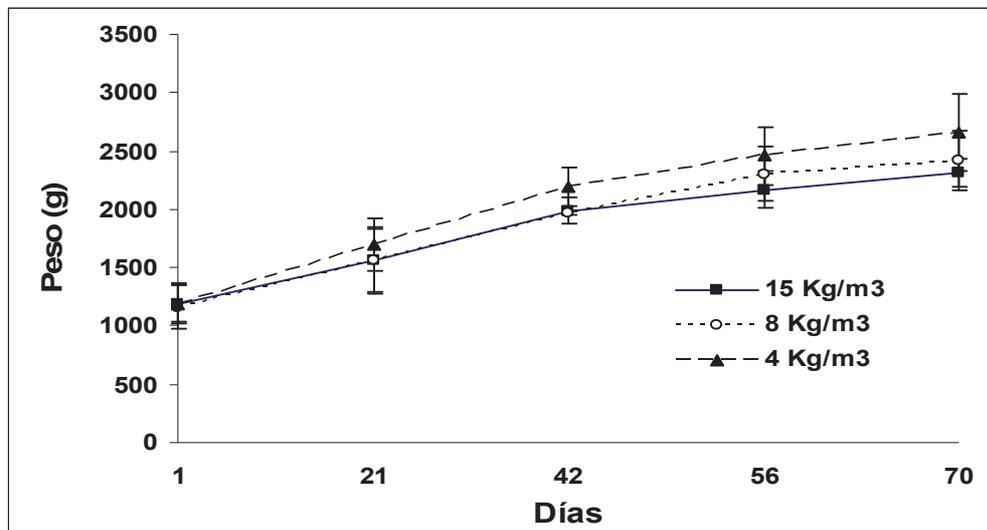
alimentación. La ración de alimentación fue ajustada en cada período de muestreo. El experimento finalizó a los 70 días. La temperatura del agua varió entre 20 ± 1 °C, y la salinidad varió entre 36 ± 1 ppt. Durante todo el experimento, el oxígeno disuelto fue siempre superior al 75%, y el amonio siempre fue menor a $0,1$ mg L⁻¹.

Los muestreos fueron hechos inicialmente cada 3 semanas para los dos primeros muestreos, y cada 2 semanas en los posteriores. Todos los pulpos fueron pesados individualmente.

Para cada intervalo, los datos obtenidos fueron usados para calcular: 1) Tasa instantánea de crecimiento (IGR) (% BWd⁻¹) = $((\ln W_2 - \ln W_1)/t) \times 100$, donde W₂ y W₁ son el peso final e inicial de los pulpos, respectivamente, ln el logaritmo neperiano, t el número de días del periodo experimental, 2) Tasa de alimentación (FR) (%BWd⁻¹) = $(FI/Cantidad\ W(t)) \times 100$, donde FI es la comida ingerida y Cantidad W(t) es el peso de los pulpos en ese período, y 3) Conversión de alimento (FC) = $(W_2 - W_1)/FI$, donde W₂-W₁ es el peso ganado por los pulpos durante ese período de tiempo y 4) Densidad de Octopus por m³ por tanque = peso total de los pulpos (Kg) / 2. La mortalidad fue calculada para cada tanque por períodos de muestreo.

Resultados

El peso final de los pulpos fue de $2310,4 \pm 121,1$ g, $2419,2 \pm 258,0$ g y $2660,0 \pm 331,6$ g, para pulpos cultivados a densidades de 15 Kg/m³, 8 Kg/m³ y 4 Kg/m³, respectivamente.



No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento ni en las tasas de crecimiento (entre 0,9 %BW d⁻¹ y 1,1 %BW d⁻¹ para las tres densidades). Sin embargo, la mortalidad fue significativamente más baja para el control (baja densidad) comparada con las otras dos densidades estudiadas. La densidad máxima en los tanques de cultivo (> 25 Kg/m³) fue alcanzada en la densidad de cultivo más alta, después de 56 días de experimento.

Discusión

La inexistencia de diferencias entre las distintas densidades de cultivo fue una sorpresa, una vez que se esperaban mayores tasas de crecimiento para los animales cultivados a menor densidad, y por eso sujetos a menor competición y estrés. En los tanques con las densidades de cultivo más elevado si se observó una mayor mortalidad, principalmente de los pulpos más pequeños, haciendo suponer la existencia de jerarquías en los tanques. Estos ejemplares muertos no presentaban señales de haber sido canibalizados, por lo que se puede suponer que probablemente tenían mas dificultad al acceso al alimento, o sufrían acoso de los animales más grandes. Es interesante constatar que, aparentemente, la capacidad máxima de estos tanques, en estas condiciones de temperatura y flujo de agua, debe ser de 25 Kg m⁻³, una vez que a partir de los 2/3 del experimento se llego a esta densidad y que esta no aumento, como sería de suponer por el aumento de peso de los animales, esto debido a la mortalidad que se incrementó a partir de estos 2/3 del experimento.

Bibliografía

- Correia, M., Domingues, P., Sykes, A., Andrade, P. 2005. Effects of culture density on growth and broodstock management of the cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture* 245:163-173.
- Domingues P., Poirier R., Dickel L., Almansa E., Sykes A., Andrade J.P. 2003. Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 11:225-242.
- Forsythe, J., Lee, P., Walsh, L., Clark, T. 2002. The effects of crowding on growth of the European cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758 reared at two temperatures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 269, 173-185
- García García, J., Rodríguez González, L.M., García García, B., 2004. Estudio económico de una explotación tipo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) en Galicia, mediante la analítica de costes. *Revista AquaTIC* 24–33.
- Globefish, (2006). <http://www.globefish.org/index.php?id=3143>. September 2006.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Muñoz, J.L., Okumura, S., Roo, J., Meeren, T. van der, Vidal, E.A.G., Villanueva, R. 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266, 1-15.
- Otero, J.J., Moxica, C., Sánchez, F.J., Iglesias, J., 2001. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier) a diferentes densidades de estabulación. *Actas del VII Congreso Nacional de Acuicultura*, Mayo 1999, Las Palmas.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A., 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238 (1–4), 221–238.

3.2.3.2. Carga óptima.

IRTA, C.A. de Cataluña.

Material y métodos

1- Diseño experimental

Se realizó una prueba de engorde de pulpo (sin distinción de sexo), utilizando dos densidades diferentes (Tanque 8 y 10) por triplicado.

Tanque 8: → 5kg/m³

Tanque 10: → 10Kg/m³

La renovación del tanque fue de: 1renov/h. Se dispuso de dos tanques (10 y 8), compartimentados en 3 (tabla 5). Hubo entrada de agua independiente para cada compartimento. La salida de agua fue común a los tres compartimentos.

Tabla 5. Distribución en tanques

Tanque 8 (10kg/m3)	8-A	8-B	8-C
Tanque 10 (20kg/m3)	10-A	10-B	10-C

2-Alimentación

La alimentación, en principio, fue a base de boga y cangrejo, en un proporción 2:1. Siendo las raciones de alimento 10% en el caso de boga y 15% en el caso de cangrejo, porcentajes referidos a la biomasa de cada compartimento. Los sábados se mantuvieron en ayuno. Esta ración se estimó semanalmente (lunes), y se mantuvo a lo largo de la experiencia. Se suministraba el alimento a primera hora de la mañana (8:30h), y se procedía a la recogida de restos y pesada del mismo a las 15:00h, de cada compartimento, sin diferenciar cangrejo de pescado.

3-Medida de parámetros

a) Temperatura y oxígeno (8:00h y 15:00h).

Las dos primeras semanas se tomaron medidas en los tres compartimentos y cada tanque, diariamente. Al constatar la ausencia de variaciones entre dichos compartimentos, se redujo el número de medidas a 1 medida por tanque.

b) pH salinidad y amonio

Se tomaron las siguientes medidas 3 veces por semana:

La duración total de la experiencia fue de 2 meses. Se realizaron muestreos cada 15 días para pesar los pulpos.

Se estimaron las tasas e índices siguientes:

- Índice de conversión: (AI_{total}/ΔBmt)

- Tasa de alimentación relativa (%) (TAR): $(AI/Bm)*100$
- Tasa de crecimiento absoluta (TCA): $Pf-Pi/t$
- Tasa de crecimiento específica (TEC): $(\ln Pf - \ln Pi)*100/t$

Donde, ΔBmt es el incremento en biomasa correspondiente a toda la prueba; AI_{total} es la cantidad total de alimento ingerido correspondiente a toda la prueba; Bm es la biomasa media del tanque semanal; AI es la cantidad media de alimento ingerido semanal; Pf es el peso medio final (g) y Pi es el peso medio inicial (g), para periodos comprendidos entre muestreos, y t es el tiempo en días.

Resultados.

1- Parámetros de cultivo

En la tabla 6 aparecen datos pertenecientes a cada uno de los parámetros de cultivo controlados a lo largo de la experiencia. A modo de resumen podemos decir que ni el pH, NO_2^- , NO_3^- y NH_4^+ alcanzaron niveles críticos, que comprometieran la continuidad del cultivo. Sin embargo, hubo que mantener especial atención con la temperatura y los niveles de oxígeno que si llegaron a ser críticos en algún momento.

Tabla 6. Parámetros de cultivo: Temperatura (°C), oxígeno (mg/L), Salinidad (ppt), NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ .

TANQUE	Tª (°C) mañana	Tª (°C) tarde	Tª (°C) media	O2 (mg/L) mañana	O2 (mg/L) tarde	O2 (mg/L) media	Salinidad (ppt)	pH	NO2 (mg/L)	NO3 (mg/L)	NH4+ (mg/L)
Baja densidad - A											
Maximum	24,1	24,6	24,2	8,7	9,1	8,9	35,3	8,1	0,0	0,0	0,3
Minimum	12,8	13,8	13,2	5,4	4,7	5,4	33,5	7,8	0,0	0,0	0,0
Mean	18,9	20,1	19,1	7,0	6,3	6,5	34,3	8,0	0,0	0,0	0,1
Baja densidad - B											
Maximum	24,1	24,6	24,2	8,7	9,1	8,9	35,3	8,1	0,0	0,0	0,2
Minimum	12,8	13,8	13,2	5,4	5,3	5,4	33,5	7,8	0,0	0,0	0,0
Mean	18,9	20,1	19,1	7,0	6,3	6,7	34,3	8,0	0,0	0,0	0,1
Baja densidad - C											
Maximum	24,1	24,6	24,2	8,3	8,9	7,6	35,3	8,1	0,0	0,0	0,2
Minimum	12,8	13,8	15,8	6,3	5,1	5,9	33,5	7,8	0,0	0,0	0,0
Mean	18,9	20,1	19,7	7,0	6,3	6,6	34,3	8,0	0,0	0,0	0,1
Alta densidad - A											
Maximum	24,1	24,6	24,3	8,3	8,0	8,0	35,4	8,1	0,0	0,0	0,7
Minimum	12,8	13,8	15,8	4,9	3,6	4,6	33,5	7,8	0,0	0,0	0,0
Mean	18,9	20,1	19,7	6,2	5,0	5,6	34,4	7,9	0,0	0,0	0,2
Alta densidad - B											
Maximum	24,1	24,6	24,3	8,3	8,2	7,3	35,4	8,1	0,0	0,0	0,4
Minimum	12,8	13,8	13,2	5,2	4,0	4,8	33,5	7,8	0,0	0,0	0,0
Mean	18,9	20,1	19,1	6,4	5,4	5,9	34,4	7,9	0,0	0,0	0,2
Alta densidad - C											
Maximum	24,1	24,6	24,3	8,2	8,2	8,2	35,4	8,1	0,0	0,0	0,5
Minimum	12,8	13,8	13,2	5,1	3,8	4,7	33,5	7,8	0,0	0,0	0,0
Mean	18,9	20,1	19,1	6,3	5,2	5,8	34,4	7,9	0,0	0,0	0,0

Al inicio de la experiencia, la temperatura del agua oscila en torno a los 24°C. A medida que transcurre el periodo de cultivo (otoño) va descendiendo hasta alcanzar valores mínimos cercanos a los 15°C al final de la experiencia (fig. 6). Los valores no son tan críticos como en las experiencias de primavera y verano, de ascenso térmico.

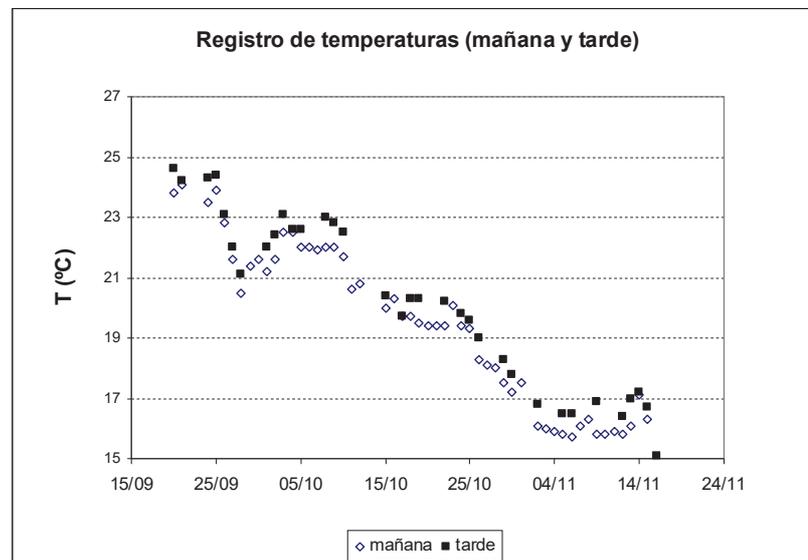


Figura 6. Registro diario de temperaturas a las 8:00h (mañana) y 15:00h (tarde), a lo largo del periodo de cultivo.

Se realizaron diversos seguimientos de los niveles de oxígeno disuelto en agua a lo largo del día, en diversas fechas, coincidiendo con diferentes periodos de temperatura. En todo momento se trató de mantener el O_2 en agua por encima del 65% de saturación, modificando los caudales de entrada de agua en el cultivo. Por línea general, y tal y como puede observarse en la figura 7, se detectan descensos por debajo del 65% en horarios inmediatamente posteriores al suministro de alimento, y bajadas de caudal del sistema general de la planta de cultivo.

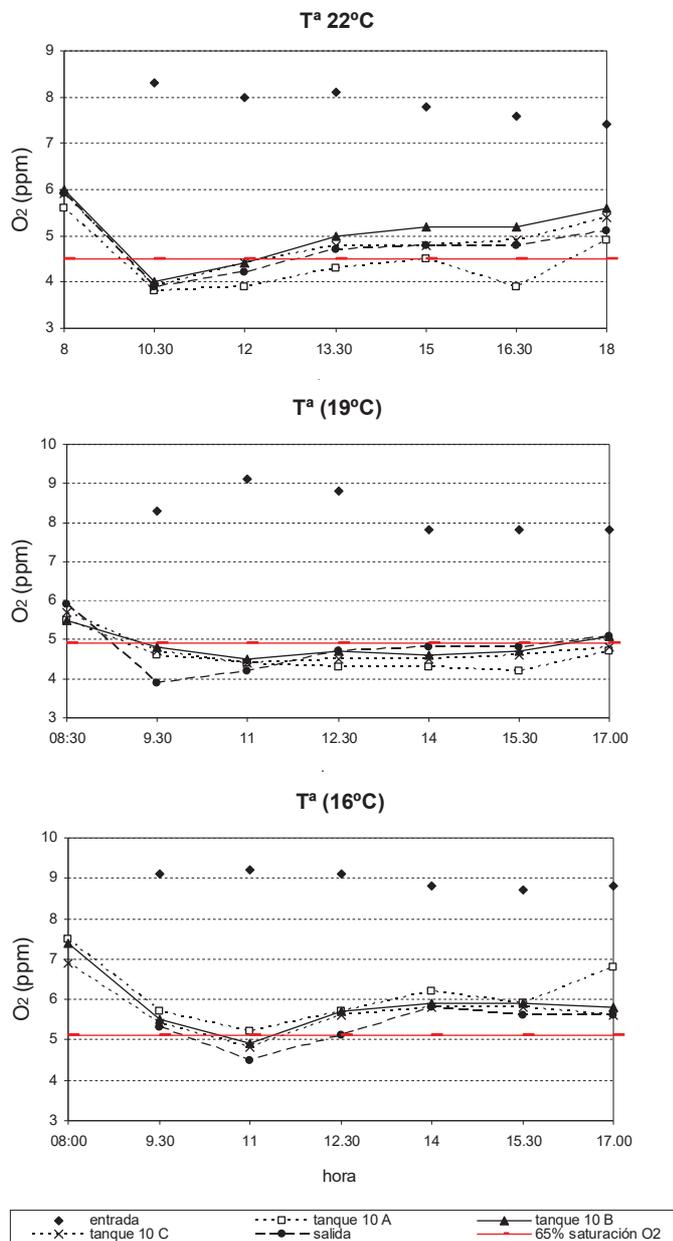


Figura 7. Ejemplo representativo de la variación de la concentración de oxígeno en agua a lo largo del día en diferentes fechas (09/10/07; 24/10/07; 09/11/07) y distintas temperaturas.

2- Tasas de alimentación

Las tasas de alimentación mantienen una relación directa con la dinámica de temperaturas, es decir, se produce un descenso paralelo al descenso térmico registrado a lo largo del periodo de cultivo (fig. 8). Inicialmente las tasas oscilan entre el 4 y 7%, mientras que al finalizar la experiencia entre 0-2%. El diseño experimental se planteó de manera que el suministro de alimento por

individuo fuese el mismo en ambas situaciones de cargas de cultivo. Parecen no existir diferencias significativas en las TAR asociadas a la carga de cultivo.

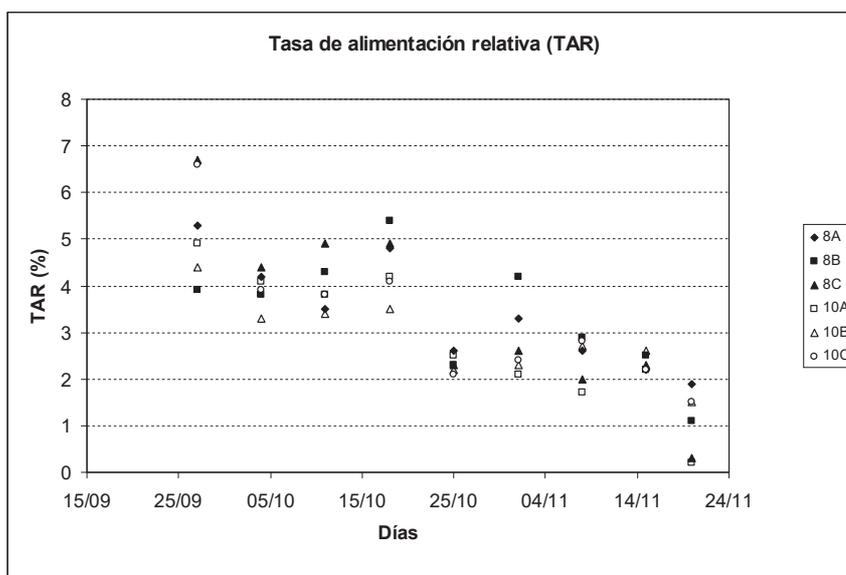


Figura 8. Tasas de alimentación relativa a lo largo del periodo de cultivo.

3- Crecimiento

En la tabla 7 se muestran los datos correspondientes a crecimiento en peso medio, índices de conversión, tasas de crecimiento absoluto y específico, biomasa generada, densidad de cultivo y supervivencia.

Ningún factor, densidad de cultivo y réplica, tienen efecto estadísticamente significativo en el peso medio de los individuos, para un nivel de confianza del 95% (Anova bifactorial, $p > 0.05$). Siendo pues, el alimento aportado no limitante y existiendo igualdad de tallas en los individuos cultivados (que eviten problemas jerárquicos y de canibalismo), podemos alcanzar densidades de cultivo en torno a los 65 kg/m^3 , tal y como se aprecia al finalizar la experiencia a alta densidad. Los niveles de supervivencia confirman estos resultados. Hay que tener en cuenta además, que la experiencia se realizó en otoño, acompañada de un régimen de temperaturas en descenso y dentro del rango comprendido entre los 24 y 15°C , rango óptimo para el crecimiento de esta especie según se detalla en la tarea 4.1.

Tabla 7. Evolución del peso medio, supervivencia, índices de conversión, biomasa generada y tasas de crecimiento de *O. vulgaris* mantenido a diferentes densidades de cultivo.

<i>Réplicas</i>	Tanque baja densidad			Tanque alta densidad		
	A	B	C	A	B	C
<i>Peso medio i (g)</i>	836.4	775.3	797.8	787.2	790.3	774.9
<i>Peso medio f (g)</i>	2871	2832.9	2457.5	2236	2593.5	2548.2
<i>Densidad i (kg/m³)</i>	13.03	12.08	12.43	24.52	24.62	24.14
<i>Densidad f (kg/m³)</i>	44.72	30.84	45.93	69.66	68.68	67.48
<i>Supervivencia (%)</i> *	100	70	100	100	85	85
<i>Biomasa i (kg)</i>	15.74	15.81	15.50	8.36	7.75	7.98
<i>Biomasa f (kg)</i>	44.72	44.09	43.32	28.71	19.83	29.49
<i>%Bm generada</i>	184	179	180	243	156	270
<i>I.C:</i>	3.5	3.9	3.0	2.2	2.1	2.4
<i>TCA</i>	32.8	33.2	26.8	23.4	29.1	28.6
<i>TEC</i>	1.99	2.09	1.81	1.68	1.92	1.92

*Supervivencia: No considerada como cómputo de individuos no muertos, engloba además pérdidas por escape de individuos del tanque.

3.2.4. Efecto de la salinidad.

IRTA, C.A. de Cataluña.

Las bahías del Delta del Ebro experimentan grandes variaciones de parámetros físico-químicos a lo largo del año debido a sus dimensiones (12 km² para la bahía del Fangar y 50 km² para la bahía de Alfacs, con una profundidad máxima de 6m en ambas bahías). Generalmente, la oscilación térmica es alta y los periodos de renovación de agua de 1-2 días en la bahía de Alfacs (Camp and Delgado 1987). Por otro lado, la lluvia y descargas de agua dulce desde los canales procedentes de los cercanos campos de arroz afectan el régimen de salinidad de la zona. Boleztky and Hanlon (1983) sugieren que los cefalópodos son pobres osmoreguladores, y que la baja salinidad suele inducir migraciones a aguas profundas (Hartwick et al., 1984).

Con el objetivo de determinar los efectos de la salinidad en el engorde de *Octopus vulgaris*, se realizaron experiencias bajo distintos regímenes de salinidad.

Material y métodos.

1- Diseño experimental

Se han probado tres salinidades diferentes en una prueba de engorde en tanque: Salinidad 1 (S1; 34 ‰, control); Salinidad 2 (S2; 31.5 ‰); Salinidad 3 (S3; 29 ‰). Para cada una de ellas se han usado tres réplicas compuesta de 5 pulpos cada una de ellas. Los tanques contenían estructuras rectangulares compuestas de tubos de PVC como refugios en sistema de circuito abierto.

La salinidad se mantuvo constante mezclando agua dulce y agua de mar procedente de la bahía dels Alfacs mediante un regulador de salinidad PID GFE 210 (GF pumping systems), provisto de una sonda control de conductividad GFE 210 (GEORGE Fisher S.A. modelo cel 2822/1, K=10,0) (figura 1).

2-Alimentación

Se administró una dieta que supuso el 12% de la biomasa, y que estuvo compuesta por pescado (*Boops boops*; *Mugil cephalus*) y cangrejo (*Carcinus sp.*), suministrados en una proporción pescado:cangrejo de 2:1, 6 días a la semana. La duración total de la experiencia fue de 56 días.

3- Medición de parámetros

Dos veces al día se tomaron datos de temperatura, salinidad y oxígeno (8:00h a.m. y 15:00h p.m) (WTW OXI 330i; WTW MULTI 340i). Tres veces por semana se midieron los niveles de pH y amonio (WTW inolab multi level 3; KIT HACH DR/870 Colorimeter). Los niveles de oxígeno se mantuvieron, mediante el control del flujo de entrada de agua, por encima del 90%, de modo que no fuese un factor limitante.

4- Cálculo de tasas

Inicialmente (W_i =peso inicial), el día 29 (W_{in} =peso intermedio) y día 56 (W_f =peso final), se llevó a cabo un muestreo en el que se evaluó supervivencia y crecimiento, mediante el pesado de todos los pulpos.

Se calcularon los siguientes índices: Tasa de alimentación absoluta ($AFR=IF/T$); Tasa de alimentación específica ($SFR=AFR \cdot 100/W_a$); Tasa de crecimiento absoluta ($AGR=(W_f-W_i)/t$); Tasa de crecimiento específica ($SGR=(\ln W_f - \ln W_i) \cdot 100/t$); Índice de conversión ($FCR=IF/(W_f-W_i)$); donde W_a = peso medio entre muestreos; T =tiempo; IF =alimento ingerido.

Diariamente, se calculó el alimento ingerido. El alimento se suministró cada día a las 10:00a.m., y los restos fueron recogidos al día siguiente para calcular la diferencia como la cantidad de alimento ingerido (García García y Aguado Giménez, 2002).



Figura 1. Tanque empleado en la prueba de salinidad. Detalle del regulador de salinidad.

Resultados

La salinidad se mantuvo aproximadamente constante en cada uno de los grupos experimentales establecidos a lo largo de todo el periodo experimental: $33.98 \pm 0.63 \text{ ‰}$ (S1; control), $31.90 \pm 0.47 \text{ ‰}$ (S2) y $28.7 \pm 0.45 \text{ ‰}$ (S3).

La supervivencia fue del 100% al finalizar el ensayo. En la tabla 1 se muestran las tasas de alimentación y crecimiento para cada grupo para el periodo completo de experimentación. Tal y como se puede observar, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en el peso final

de los individuos atribuibles al régimen de salinidad empleado. Del mismo modo, tampoco se detectaron diferencias significativas en las tasas de alimentación (AFR, SFR) (ANOVA, $p > 0.05$). Sin embargo, si estudiamos estas tasas de modo parcial (figura 1), es decir, calculadas para los periodos comprendidos entre muestreos, observamos como AFR desciende conforme lo hace la salinidad, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($S1=S2 > S3$) transcurridos los primeros 29 días (figura 2). Estas diferencias desaparecen en el segundo tramo experimental.

En cuanto a las tasas de crecimiento (AGR), no se observaron diferencias en ningún caso (día 29, ANOVA $p > 0.05$; día 56, Kruskal-Wallis, $p > 0.05$).

Por otro lado, en la figura 2 sí que podemos ver como AFR y AGR descienden a medida que transcurre la experiencia independientemente del nivel de salinidad usado, pero positivamente correlacionado con la temperatura. Las diferencias entre muestreos son estadísticamente significativas en el caso de AFR ($S1$, $p < 0.05$) y AGR ($S1$, $p < 0.01$; $S2$, $p < 0.05$).

Tabla 1. Valor medio \pm S.D. para cada índice de cada grupo experimental.

Salinity	S1	S2	S3	ANOVA
Wi (g)	1087.00 \pm 251.60	904.00 \pm 267.73	995.07 \pm 261.84	n.s
Win	1889.86 \pm 411.45	1630.93 \pm 515.56	1753.4 \pm 405.77	n.s
Wf (g)	2324.93 \pm 458.95	2064.40634.84	2233.00439.27	n.s
S (%)	100	100	100	
AGR	22.25 \pm 0.44	20.72 \pm 1.92	22.11 \pm 1.16	n.s
SGR	1.36 \pm 0.02	1.47 \pm 0.12	1.44 \pm 0.05	n.s
AFR	32.58 \pm 1.46	29.91 \pm 5.71	24.75 \pm 2.92	n.s
SFR	1.91 \pm 0.13	2.01 \pm 0.35	1.54 \pm 0.12	n.s

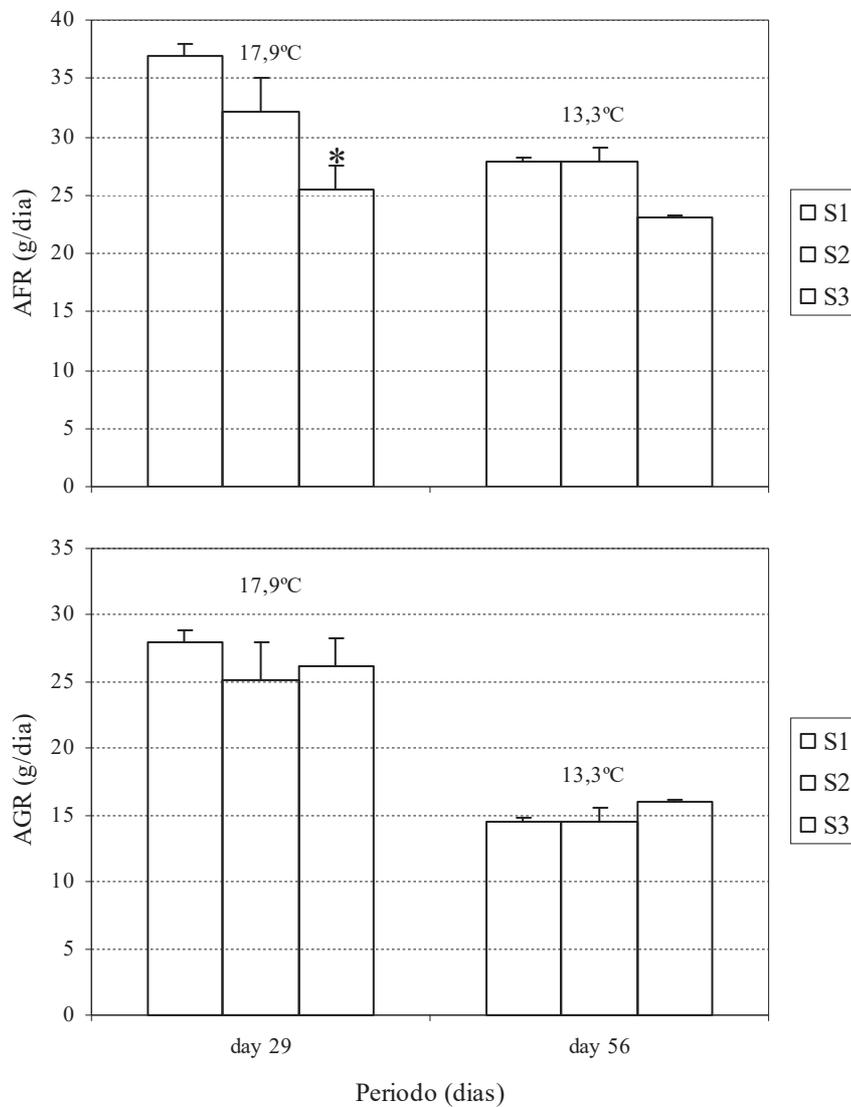


Figura 2. Valor medio \pm S.D. para AFR y AGR parciales. La temperatura ($^{\circ}$ C) se expresa como media para el periodo comprendido entre muestreos. S1 (34‰); S2 (31.5‰); S3 (29‰). * $p < 0.05$.

3.2.5. Efecto de la maduración sexual.

3.2.5.1. Determinación de los periodos de maduración gonadal durante el proceso de engorde y efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento y la maduración.

IRTA , C. A. de Cataluña.

Objetivo 1: Determinar la incidencia de maduración durante el engorde en primavera.

Se hicieron ensayos de engorde en tanques que tuvieron como objetivo fundamental estudiar la maduración gonadal a lo largo del proceso de engorde. Se llevaron a cabo dos ensayos, uno en condiciones naturales de primavera con fotoperíodo creciente para estudiar la incidencia de maduración en condiciones de engorde y el segundo para ver el efecto de un fotoperíodo de invierno (9 horas de luz y 15 horas de oscuridad LO 9:15) aplicado en primavera. En los dos ensayos, se extrajeron muestras de ejemplares para determinar el estado de madurez sexual. De cada individuo se obtuvieron los siguientes datos: el sexo, el peso total (PT) y eviscerado (PE), la longitud total (LT), dorsal (LDM) y ventral del manto (LVM), anchura, peso de las gónadas y de sus glándulas por separado: ovarios (Pov) o testículos (Pt), y peso de los oviductos y sus glándulas oviductales (Povd) o del complejo de la bolsa de Needham o espermatofórico (Pn). Con estos datos se calcularán los siguientes índices:

Machos:

-Índice de madurez sexual (Guerra, 1975): $M = \frac{Pn}{Pn + Pt}$

-Índice del complejo espermatofórico (Fernández-Nuñez et al., 1996): $ICE = \left(\frac{Pt + Pn}{PE}\right) * 100$

-Escala de madurez macroscópica (Dia & Goutschine, 1990):

Estado I. Inmadurez. Gónada pequeña y blanca, con diámetro variable entre 0,5 y 3 cm. Sin espermátóforos visibles y con los órganos del complejo espermatofórico apenas diferenciados.

Estado II. Maduración. El testículo presenta un diámetro de 3 a 6 cm y va adquiriendo una tonalidad marfil. Se pueden distinguir dos partes en la gónada, el testículo y el complejo espermatofórico, cuyos órganos se vuelven discernibles. Los espermátóforos apreciables dentro del complejo presentan aún una parte transparente.

Estado III. Individuos maduros. El testículo aumenta de tamaño hasta estabilizarse sin cambios importantes de coloración, a excepción de un ribete rojizo en la base del saco

espermatozóico. Los espermatozoides aumentan de tamaño y se colocan en el espermiducto, de forma que una presión permite liberarlos, lo que puede significar que los machos están listos para el acoplamiento o que éste ya tuvo lugar. El peso del complejo espermatozóico o de Needham puede igualar y superar al del testículo.

Estado IV. Post-freza. El acoplamiento ya finalizó tuvo lugar y el saco está parcial o totalmente vacío. El testículo se vuelve relativamente pequeño, de color gris-pajizo y está surcado de arrugas.

Hembras:

-Índice de madurez sexual (Guerra, 1975): $M = \frac{Povd}{Povd + Pov}$

-Índice ovario-oviductal (Fernández-Nuñez et al., 1996): $IOO = \frac{Povd + Pov}{PE}$

-Escala de madurez macroscópica (Dia & Goutschine, 1990):

Estado I. Inmadurez. El ovario es muy pequeño y blanquecino, con diámetro variable entre 1 y 2,5 cm. Las glándulas oviductales son también pequeñas, blanquecinas y de forma esférica. Sin ovocitos visibles dentro del ovario.

Estado II. Maduración. El ovario se vuelve de color marfil y aumenta de tamaño, con diámetro comprendido entre 2,5 y 8 cm. Los ovocitos se visualizan pero no de forma individual. Los oviductos se ensanchan y en la base de las glándulas oviductales aparece una banda bastante restringida de color marrón que se extenderá hasta la mitad de las glándulas conforme evolucione la maduración.

Estado III. Individuos maduros. El ovario es muy voluminoso y ocupa un tercio de la cavidad del manto. Presenta un color amarillo limón debido a los ovocitos, con una estructura interna reticulada. Las glándulas de los oviductos aumentan de volumen y se aplastan, y la banda marrón adopta la forma de una corona ocupando hasta la mitad de la glándula. Esta corona se prolonga de estrías regulares produciendo una segmentación interna. El color se vuelve rosado asalmonado.

Estado IV. Post-freza. El ovario está vacío y quedan restos de tejidos de color oscuro surcados por bandas blanquecinas, pudiendo presentar una inflamación. Las glándulas se reducen ligeramente y se oscurecen, aunque pueden conservar durante algún tiempo la zonación descrita anteriormente.

Material y métodos:

Estabulación de los pulpos:

Se realizó una prueba de engorde de pulpo (sin distinción de sexo), utilizando dos dietas diferentes (D1 y D2). D1: 2:1 (Boga:Cangrejo) y D2: 2:1 (Pescado de descarte, lisa (Mugil sp.): Cangrejo). Se suministró diariamente una ración de alimento del 10% (de la biomasa) de pescado y

15% de cangrejo. Los sábados se mantuvieron en ayuno. Esta ración se estimó semanalmente (lunes), y se mantuvo a lo largo de la experiencia. Se suministraba el alimento a primera hora de la mañana (8:30h), y se procedía a la recogida de restos y pesada del mismo a las 15:00h, de cada compartimento, sin diferenciar cangrejo de pescado.

La renovación del tanque fue de: 1renov/h. Se dispuso de dos tanques rectangulares (5.5 x 0.75 x 0.5 m, volumen 2.050 L, tanques 10 y 8), compartimentados en tres secciones con entrada de agua independiente en cada compartimento. En cada compartimento iban 6 pulpos. La salida de agua era común a los tres compartimentos. La duración total de la experiencia fue de 2 meses (64 días).

Obtención de datos de madurez:

Durante el periodo de siembra 23 de abril a 15 de mayo, se seleccionaron al azar y se sacrificaron 13 pulpos (4 hembras y 9 machos). Al final de la experiencia de engorde (2 de julio), se cogieron de forma aleatoria y se sacrificaron 12 pulpos (4 hembras y 8 machos). Todos los pulpos fueron congelados y guardados hasta que se llevó a cabo la disección en donde se extrajeron muestras para determinar el estado de madurez sexual (ver arriba). Se determinaron los siguientes parámetros de madurez: índice de madurez sexual, índice del complejo espermatofórico (machos), índice ovario-oviductal (hembras) y escala de madurez macroscópica (ver arriba). Todas las medias se expresan con la desviación estándar. Por cada distribución de datos, se determinó la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y se determinó la homogeneidad de varianza con la prueba de Bartlett. Los distribuciones normales y homogéneas (peso, índice del complejo espermatofórico y índice ovario-oviductal) fueron comparados (datos iniciales contra datos finales, por sexo) con un prueba de T y los datos que no presentaron distribuciones normales (índice de madurez sexual y escala de madurez macroscópica) fueron comparadas con la prueba Mann-Whitney (Sigma Stat, versión 3.1, Systat Software Inc., USA).

Resultados.

Los machos y hembras crecieron significativamente de 1.086g y 671g a 2.795g y 2.304g, respectivamente (figura 1). Los parámetros de maduración; escala de madurez macroscópica (Figura 2), índice de madurez sexual (Figura 3), índice del complejo espermatofórico (machos), y índice ovario-oviductal (hembras) (Figura 4), indican una tendencia de maduración durante el periodo de engorde. Sin embargo, el incremento en madurez no fue significativamente distinto en las hembras. Este resultado podría ser debido al bajo número de individuos $n=4$ y como consecuencia no se detectaron diferencias significativas. Los machos, presentaron diferencias significativas en los parámetros de madurez, un incremento significativo en la escala de madurez macroscópica y el índice de madurez sexual.

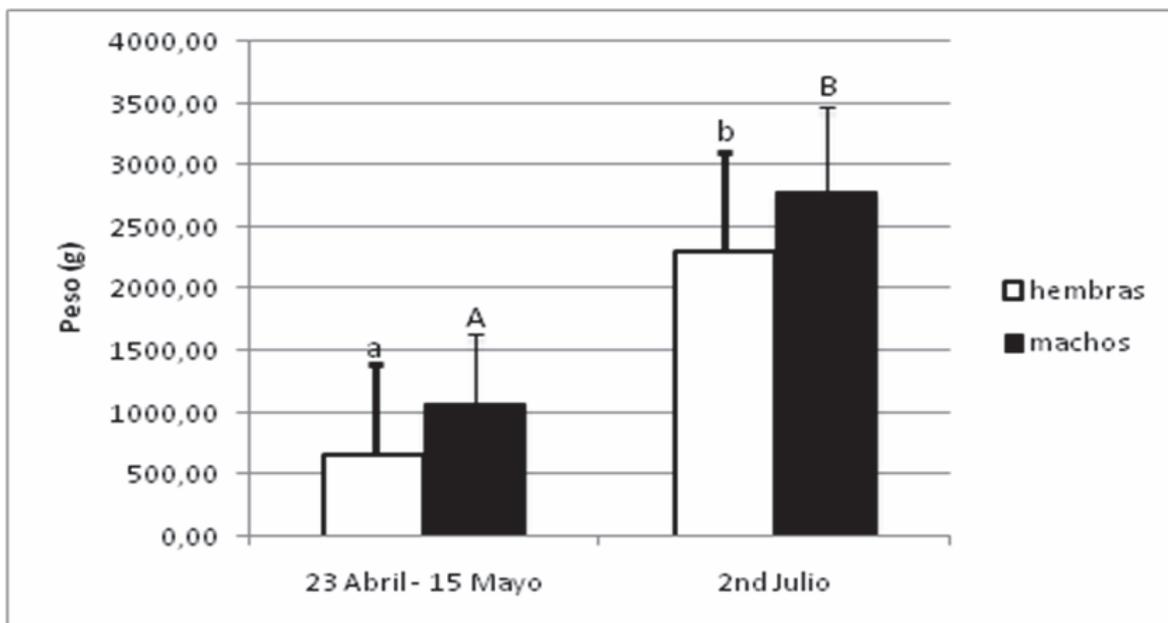


Figura 1. Crecimiento (g) del periodo de siembra (23 abril – 15 mayo) hasta la finalización (2 julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*). Diferente letras del mismo tipo (mayúsculas o minúsculas) indican diferencias significativos ($P < 0.05$).

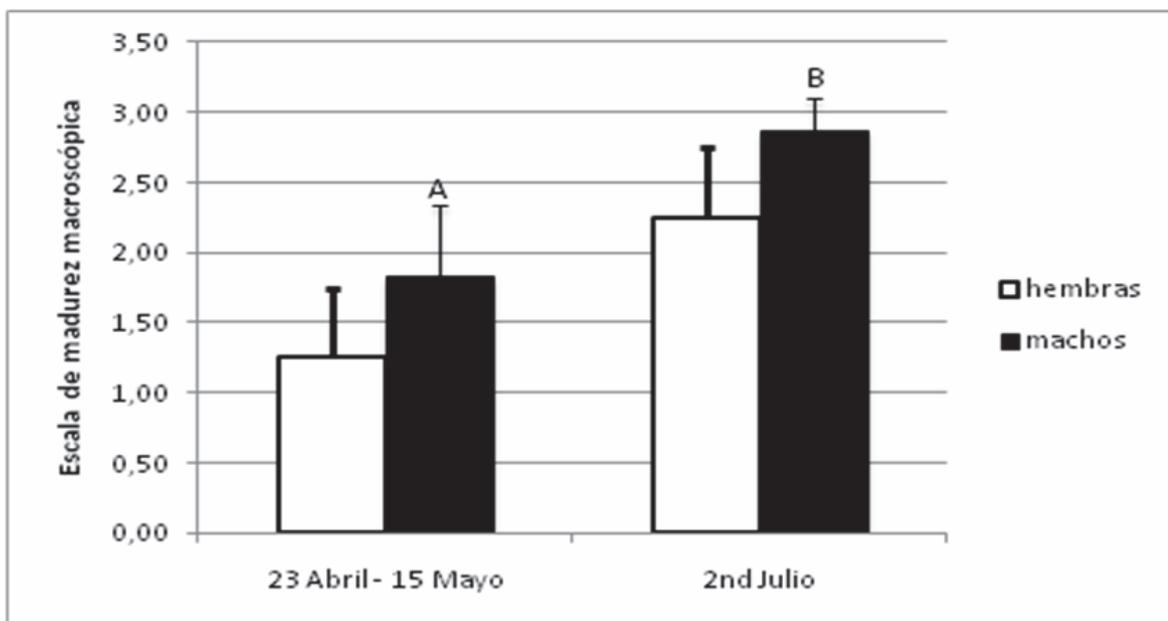


Figura 2. Escala de madurez macroscópica (inmaduro 1 a maduro 3 y post freza 4) del periodo de siembra (23 abril – 15 mayo) hasta terminación (2 julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*). Diferente letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

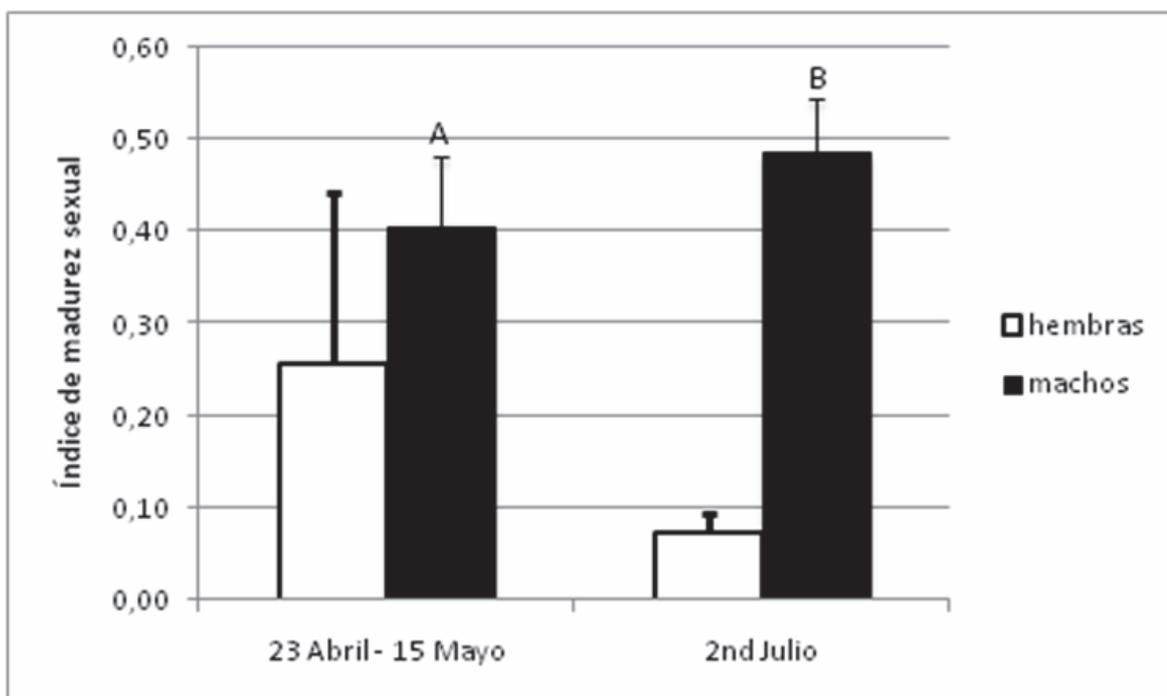


Figure 3. Índice de madurez sexual del periodo de siembra (23 abril – 15 mayo) hasta terminación (2 julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*). Diferente letras indican diferencias significativos ($P < 0.05$).

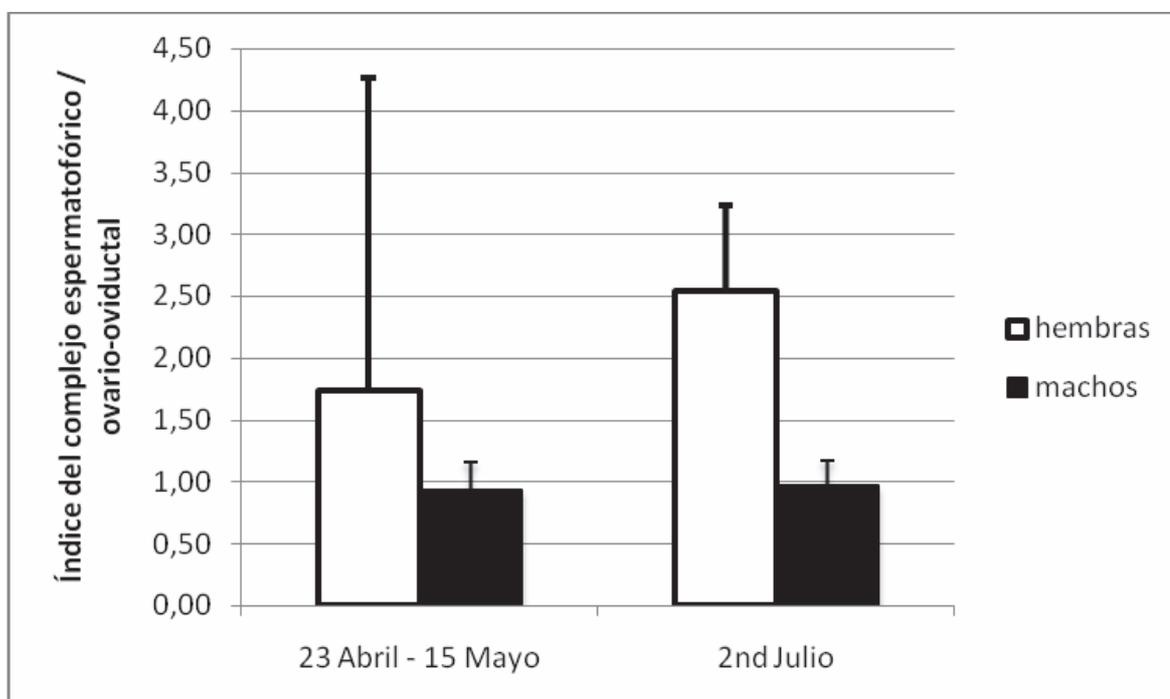


Figura 4. Índice del complejo espermatofórico / ovario-oviductal del periodo de siembra (23 abril – 15 mayo) hasta terminación (2 julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*).

Efecto del fotoperiodo sobre el crecimiento y la maduración

Objetivo: Determinar el efecto de un fotoperiodo de invierno aplicado en primavera en la incidencia de maduración durante el engorde.

Material y métodos.

Estabulación de los pulpos:

Se realizó una prueba de engorde de hembras de pulpo en dos condiciones de fotoperiodo. Se dispuso de dos tanques rectangulares (5.5 x 0.75 x 0.5 m, volumen 2.050L, tanques 10 y 8), compartimentados en tres secciones con entrada de agua independiente en cada compartimento. Cada tanque iba recubierto con un toldo de lona aislante superior para controlar el fotoperiodo. En la parte superior interna de las lonas, se instalaron luces fluorescentes blancas con un horario programado de funcionamiento reproduciendo la iluminación natural. A un tanque se aplicó un fotoperiodo de "invierno" (LO 9:15); en otro tanque un fotoperiodo "natural" de verano (LO 14:8). En cada uno de los tres compartimentos de cada tanque iban 5 pulpos (4 hembras y 1 macho). La salida de agua era común a los tres compartimentos. La renovación del tanque fue de 1renov/h. La experiencia empezó el 30 de abril cuando los pulpos fueron distribuidos al azar entre los compartimentos. Después de 8 días de aclimatación los dos fotoperiodos fueron aplicados a partir del 8 de mayo. La experiencia del fotoperiodo tuvo una duración de 2 meses (59 días).

Se suministró diariamente, de domingo a viernes, una dieta de pescado de descarte o cangrejo. Los sábados se mantuvieron en ayuno. El domingo y miércoles se dio una ración de cangrejo del 8 o 10% de la biomasa (dependiendo de la temperatura) y el lunes, martes, jueves y viernes se daba una ración de pescado del 5 o 10% de la biomasa (dependiendo de la temperatura). El suministro del alimento en cada compartimento era a primera hora de la mañana (8:30h), y se procedía a la recogida de restos y pesada del mismo a las 15:00h.

Obtención de datos de madurez:

El día de siembra 30 de abril, se seleccionaron al azar y se sacrificaron 5 hembras. A mitad de la experiencia, el 8 de junio se procedió a la extracción de forma aleatoria y al sacrificio de otras 4 hembras de cada tratamiento de fotoperiodo; y en la fecha final de la experiencia se sacrificaron las hembras que quedaban: 4 del grupo de fotoperiodo invierno y 3 del grupo de fotoperiodo natural. Todos los pulpos fueron congelados y guardados hasta que se procedió a su disección y extracción de muestras para determinar el estado de madurez sexual (ver arriba). Se determinaron los siguientes parámetros de madurez: índice de madurez sexual, índice del complejo espermatofórico (machos), índice ovario-oviductal (hembras) y escala de madurez macroscópica (ver arriba). Todas las medias se expresan con la desviación estándar. Por cada distribución de datos, se determinó la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza con la prueba de Bartlett. Las distribuciones normales y homogéneas (peso y índice de madurez) y las distribuciones de la escala de madurez macroscópica que no fueron normal ni homogénea (pero además con muchos valores iguales "tied" que complica un análisis no paramétrico) fueron comparados con un ANOVA de una vía y un comparación múltiple de Bonferroni t-test. Las distribuciones que no presentaron distribuciones normales (índice ovario-oviductal) fueron comparadas con la prueba Kruskal-Wallis y un comparación múltiple de Dunn's (Sigma Stat, versión 3.1, Systat Software Inc., USA).

Resultados.

Durante el ensayo, la temperatura aumento gradualmente de 17.3°C hasta 25.3°C el promedio durante el mes de mayo fue de 19.6±1.2°C (rango de 17.6 a 22.2°C) y el promedio durante junio y los primeros días de julio fue de 23.9±1.1°C (rango de 21.9 a 26.2°C). Nueve pulpos hembras se murieron, cinco del tratamiento natural (LO 14:8) dos en mayo y tres en junio y cuatro del tratamiento invierno (LO 9:15) uno en mayo y tres en junio. Durante el ensayo, se produjeron un total de cuatro puestas, dos en junio (una del tratamiento natural y una en el tratamiento invierno) y dos en julio (también uno en cada tratamiento). Las hembras crecieron significativamente de 1.441g de la fecha inicial, 30 de abril a 2.524g y 2.614g el 8 de junio en los grupos natural e invierno, respectivamente (figura 5). Del 8 de junio a 6 de julio los pulpos mantuvieron el mismo peso, con una ligera pérdida de peso que no fue significativo. Los parámetros de maduración; escala de madurez macroscópica (Figura 6) e índice de madurez sexual (Figura 7), cambiaron significativamente del muestreo inicial (30 de abril) a los muestreos del 8 de junio y 6 de julio. La escala de madurez macroscópica (Figura 6) aumentó significativamente de 1.2 (30 de abril) a 2.5 y 3.2 (8 de junio y 6 de julio) en el tratamiento natural y a 3 (8 de junio y 6 de julio) en el tratamiento invierno. El índice de madurez sexual (Figura 7), también indicó un avance en el estado de madurez con una disminución significativo en el índice de 0.17 (30 de abril) a 0.07 (8 de junio y 6 de julio) en el tratamiento natural y a 0.05 y 0.04 (8 de junio y 6 de julio) en el tratamiento invierno. El índice ovario-oviductal (Figura 8), solo presento un diferencia significativa en relación al inicio (0.87) con y el tratamiento de invierno de 6 de julio (9.61).



Distintos grados de madurez sexual de una hembra

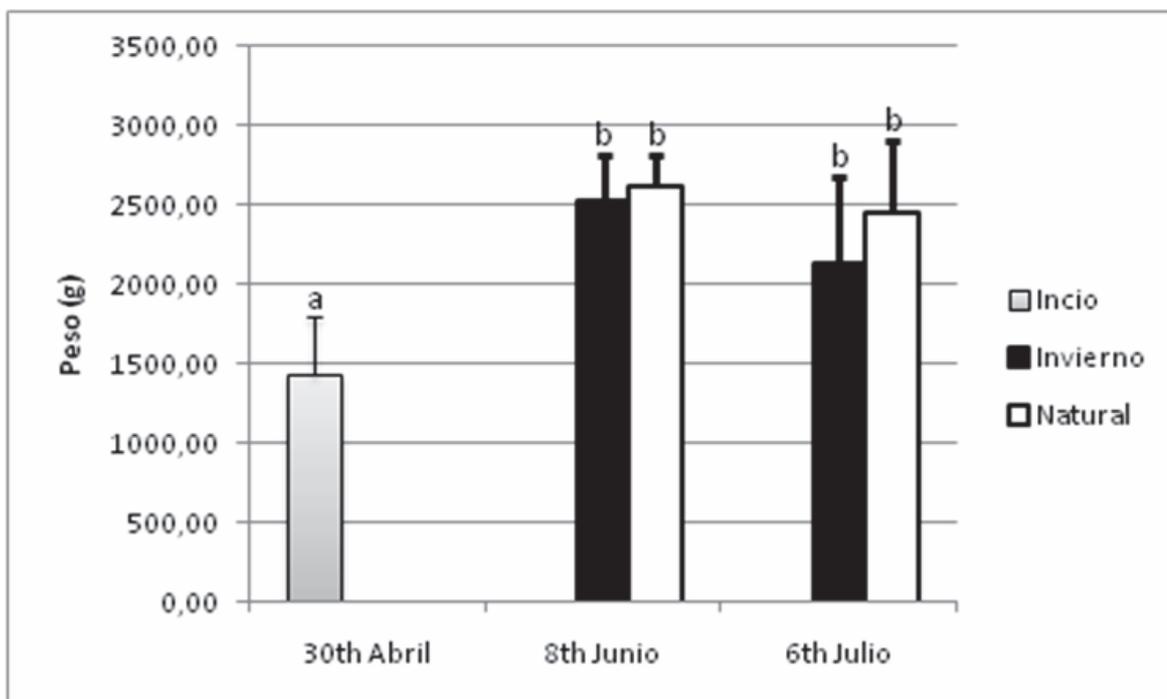


Figura 5. Crecimiento (g) de la siembra (30 de abril, en gris) hasta la terminación (6 de julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con dos tratamientos de fotoperiodo "Invierno" de LO 9:15 (en negro) y natural de LO 14:10 (en blanco). Diferente letras indican diferencias significativos ($P < 0.05$).

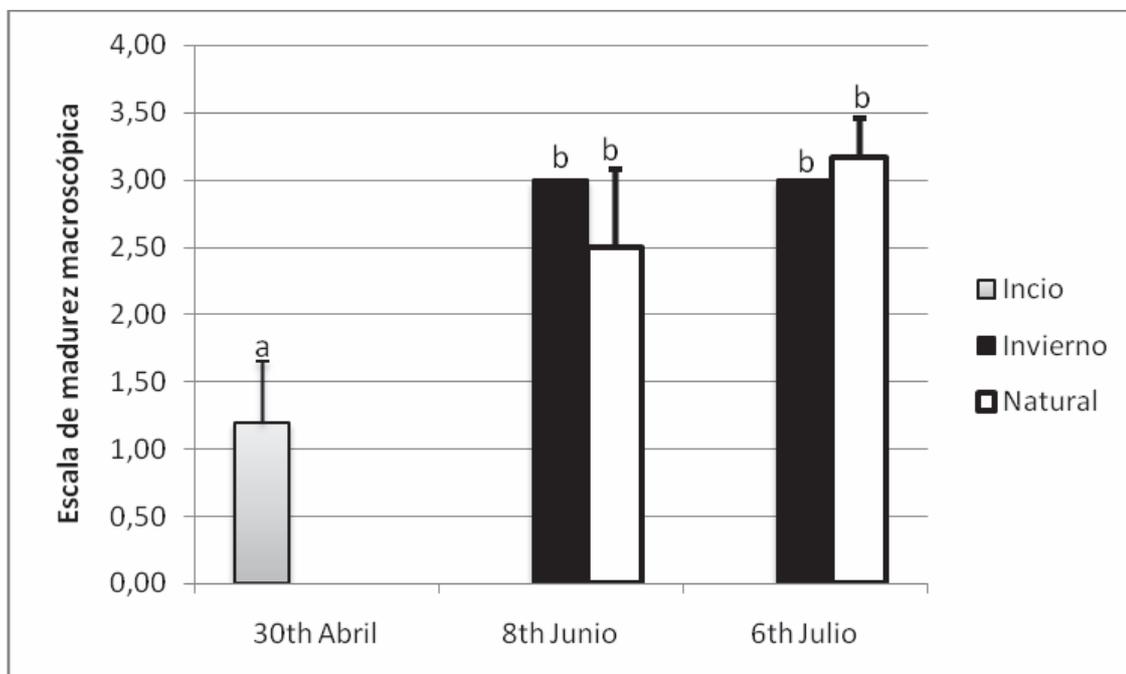


Figura 6. Escala de madurez macroscópica (inmaduro 1 a maduro 3 y post freza 4) de la siembra (30 de abril, en gris) hasta la terminación (6 de julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con dos tratamientos de fotoperiodo "Invierno" de LO 9:15 (en negro) y natural de LO 14:10 (en blanco). Diferente letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

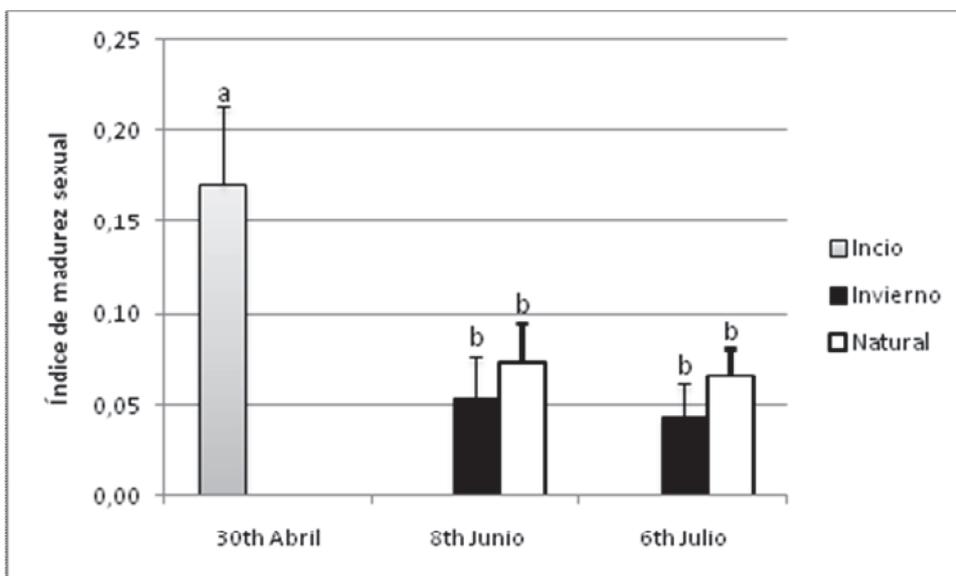


Figura 7. Índice de madurez sexual de la siembra (30 de abril, en gris) hasta la terminación (6 de julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con dos tratamientos de fotoperiodo “Invierno” de LO 9:15 (en negro) y natural de LO 14:10 (en blanco). Diferente letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

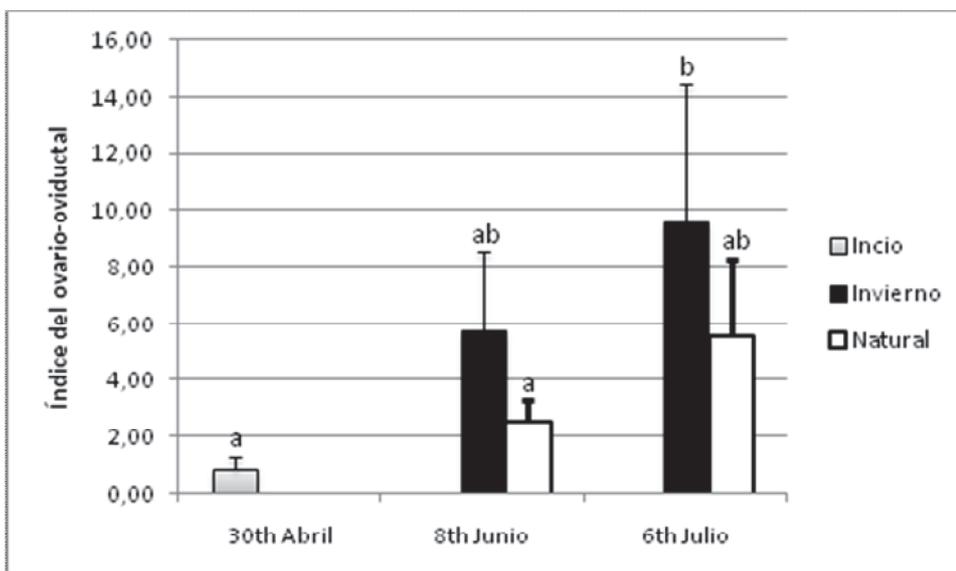


Figura 8. Índice ovario-oviductal de la siembra (30 de abril, en gris) hasta la terminación (6 de julio) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con dos tratamientos de fotoperiodo “Invierno” de LO 9:15 (en negro) y natural de LO 14:10 (en blanco). Diferente letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

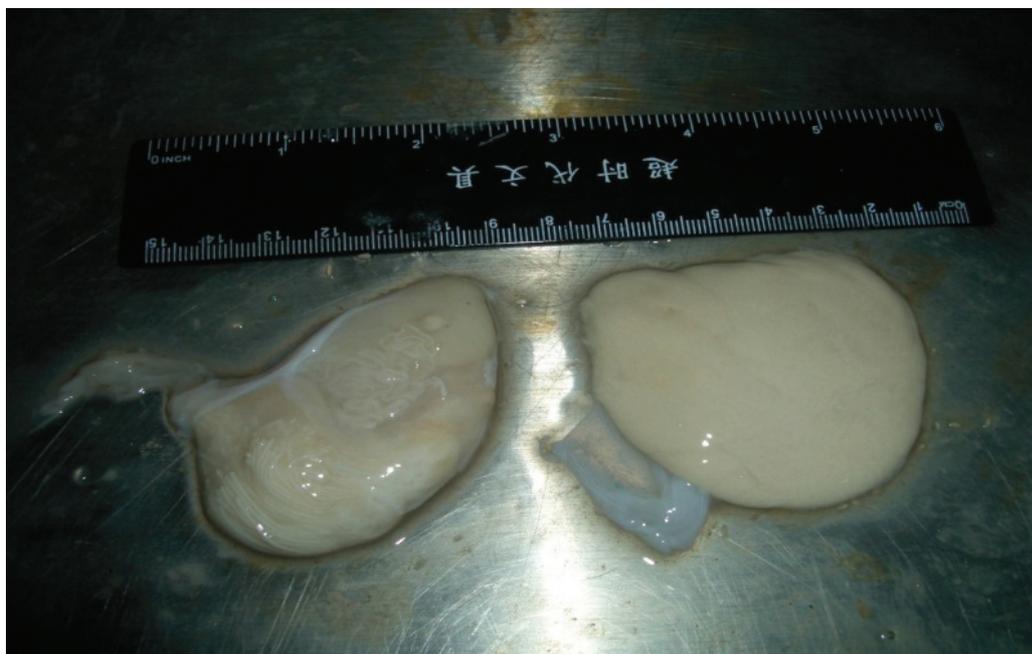


Figura 9 .gónada masculina.

Conclusiones.

El desarrollo y estado de madurez durante el ensayo y bajo dos tratamientos distintos de fotoperiodo, natural (LO 14:10) y invierno (LO 9:15) fueron similares avanzando de un estado de inmadurez el 30 de abril a un estado de madurez y fresa en junio y julio. No hubo diferencias significativas en la escala de madurez macroscópica e índice de madurez sexual entre los dos tratamientos de fotoperiodo, natural e invierno. Se puede concluir que aplicando un fotoperiodo de invierno a partir del 8 de mayo y en las condiciones escritas, no afecta en modo alguno al desarrollo de madurez del pulpo. Durante junio no hubo crecimiento y se murieron un total de 6 hembras. Es posible que la falta de crecimiento y mortalidad fuera consecuencia de las altas temperaturas ($23.9 \pm 1.1^\circ\text{C}$), el estado avanzado de madurez y las 4 puestas observadas.

Bibliografía.

- Dia M, Goutschine A (1990) Échelle de maturité sexuelle du poulpe (*Octopus vulgaris*, Cuvier, 1797) des eaux mauritaniennes. Bull Cent Nat Rech Oceanogr Peches 21:1–6
- Fernández-Nuñez MM, Hernández-González CL, Raya CP, Balguerías E (1996) Reproductive biology of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 from north western African coast (21°N–26°N). Shellfish Committee C. M./K:15. ICES (International Council for the Exploration of the Sea), Copenhagen, Denmark
- Guerra, A., 1975. Determinación de las diferentes fases del desarrollo sexual de *Octopus vulgaris* Lamarck, mediante un índice de madurez. Investigaciones pesqueras 39 (2): 397-416.

Objetivo 2: Determinar la incidencia de maduración durante el engorde en otoño.

Se hicieron ensayos de engorde en tanques que tuvieron como objetivo fundamental estudiar la maduración gonadal a lo largo del proceso de engorde. Se llevaron a cabo dos ensayos, uno en condiciones naturales de otoño con fotoperiodo creciente para estudiar la incidencia de maduración en condiciones de engorde y el segundo para ver el efecto de un fotoperiodo de invierno (9 horas de luz y 15 horas de oscuridad LO 9:15) aplicado en primavera. En los dos ensayos, se extrajeron muestras de ejemplares para determinar el estado de madurez sexual. De cada individuo se obtuvieron los siguientes datos: el sexo, el peso total (PT) y eviscerado (PE), peso de las gónadas y de sus glándulas por separado: ovarios (Pov) o testículos (Pt), y peso de los oviductos y sus glándulas oviductales (Povd) o del complejo de la bolsa de Needham o espermatofórico (Pn). Con estos datos se calcularán los índices descritos anteriormente en el objetivo 1.

Material y métodos:

Se midieron el madurez de los pulpos del control de la experiencia de engorde de otoño 2010 (ver arriba).

Estabulación de los pulpos:

Como se definió arriba en la sección Otoño 2010. Se realizó una prueba de engorde de pulpo (sin distinción de sexo), utilizando tres dietas diferentes 1) dieta control (pescado blanco + cangrejo 2:1), 2) dieta extrusionada de la Universidad Politécnica de Valencia and 3). dieta semihúmeda de la Universidad de Santiago. Al control se le suministró una dieta de pescado y cangrejo: pescado → 10% de la biomasa, 5 días/semana de pescado y cangrejo → 15% de la biomomasa, 2 días/semana. Esta ración se estimó semanalmente (lunes), y se mantuvo a lo largo de la experiencia. Se suministraba el alimento a primera hora de la mañana (9-10 h), y se procedía a la recogida de restos y pesada del mismo a las 16:00h, de cada compartimento, sin diferenciar cangrejo de pescado.

La renovación del tanque fue de: 600 litros/hora. Se dispuso de un tanque control rectangular (tanque 10) de 5.5 x 0.75 x 0.5 m, que contenía un volumen de 1.800 L, dividido en tres secciones con entrada de agua independiente en cada compartimento. En cada sección se colocaba un grupo de 6 pulpos. La salida de agua era común a los tres compartimentos. La duración total de la experiencia fue de algo más de 2 meses (64 días).

Obtención de datos de madurez:

Durante el periodo de estabulación 5 de octubre, se seleccionaron al azar y se sacrificaron 13 pulpos (7 hembras y 6 machos). Al final de la experiencia del engorde (30 de noviembre), se sacrificaron 11 pulpos (7 hembras y 4 machos) del grupo control. Se determinaron los siguientes parámetros de madurez: índice del complejo espermatofórico (machos), índice ovario-oviductal (hembras) y escala de madurez macroscópica (ver arriba). Todas las medias se expresan con la desviación estándar. Para cada distribución de datos, se determinó la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y se determinó la homogeneidad de varianza con la prueba de Bartlett. Las distribuciones normales y homogéneas (peso, índice del complejo espermatofórico y índice ovario-oviductal) fueron comparadas (datos iniciales contra datos finales, por sexo) con un prueba de T y los datos que no presentaron distribuciones normales (índice de madurez sexual y escala de madurez macroscópica) fueron comparadas con la prueba Mann-Whitney (Sigma Stat, versión 3.1, Systat Software Inc., USA).

Resultados.

Los machos y hembras crecieron significativamente de $979\pm498\text{g}$ y $881\pm153\text{g}$ a $2393\pm152\text{g}$ y $1696\pm216\text{g}$, respectivamente (figura 1). Los parámetros de maduración; escala de madurez macroscópica (Figura 2), índice del complejo espermatofórico (machos), y índice ovario-oviductal (hembras) (Figura 3), indican un tendencia de maduración durante el periodo de engorde. Hubo un incremento significativo ($P<0.05$) en el índice del complejo espermatofórico (machos), y índice ovario-oviductal (hembras).

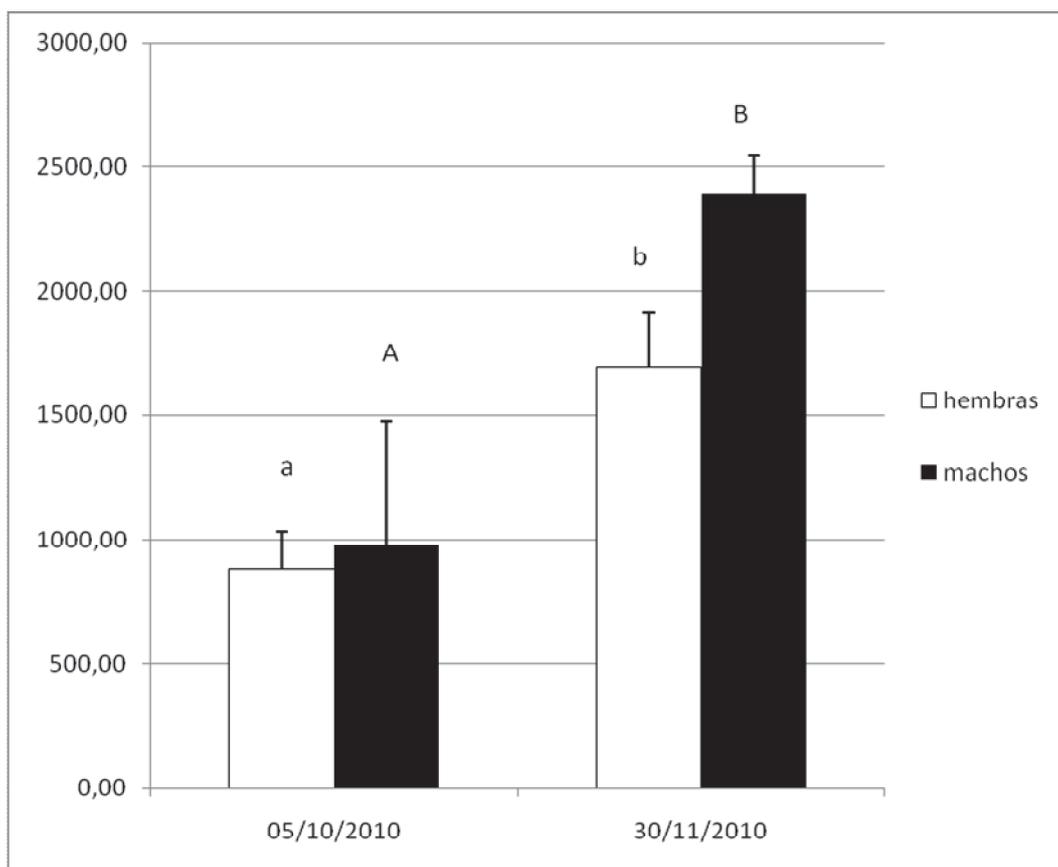


Figura 1. Crecimiento (g) de la siembra (05/10/2010) hasta la finalización (30/11/2010) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*). Diferentes letras del mismo tipo (mayúsculas o minúsculas) indican diferencias significativas ($P<0.05$).

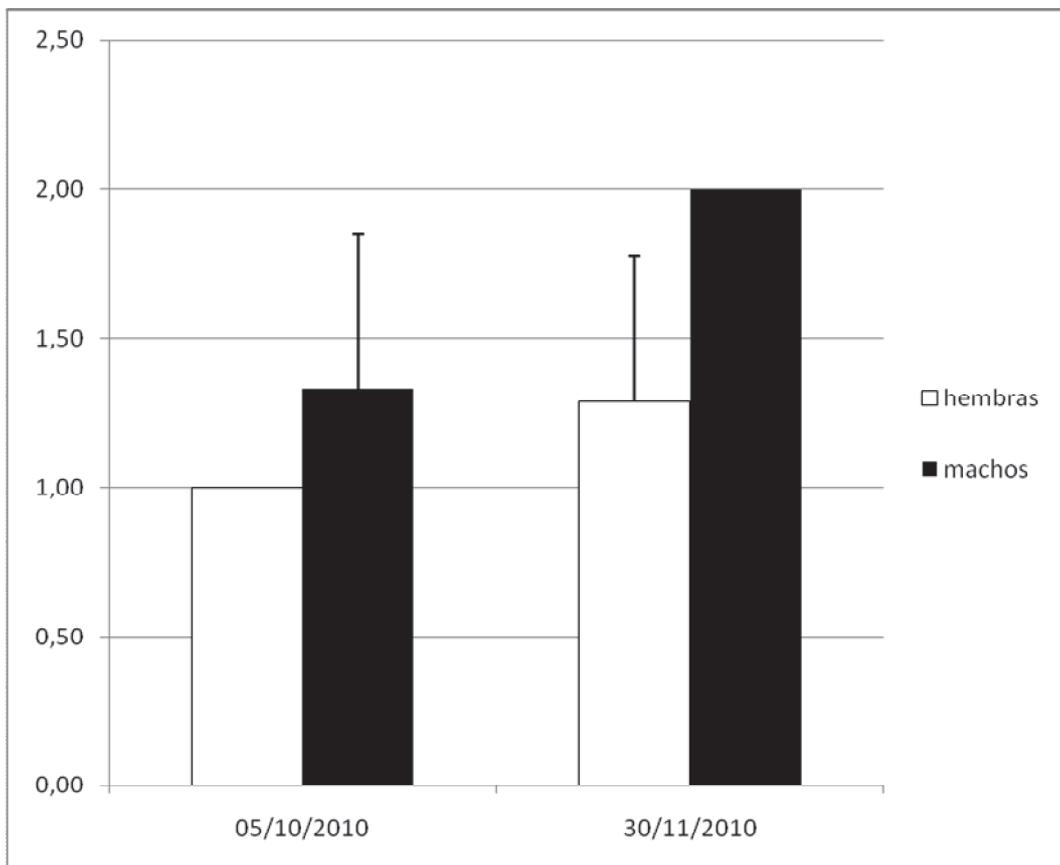


Figura 2. Escala de madurez macroscópica (inmaduro 1 a maduro 3 y post freza 4) de la siembra (05/10/2010) hasta terminación (30/11/2010) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*). Diferente letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

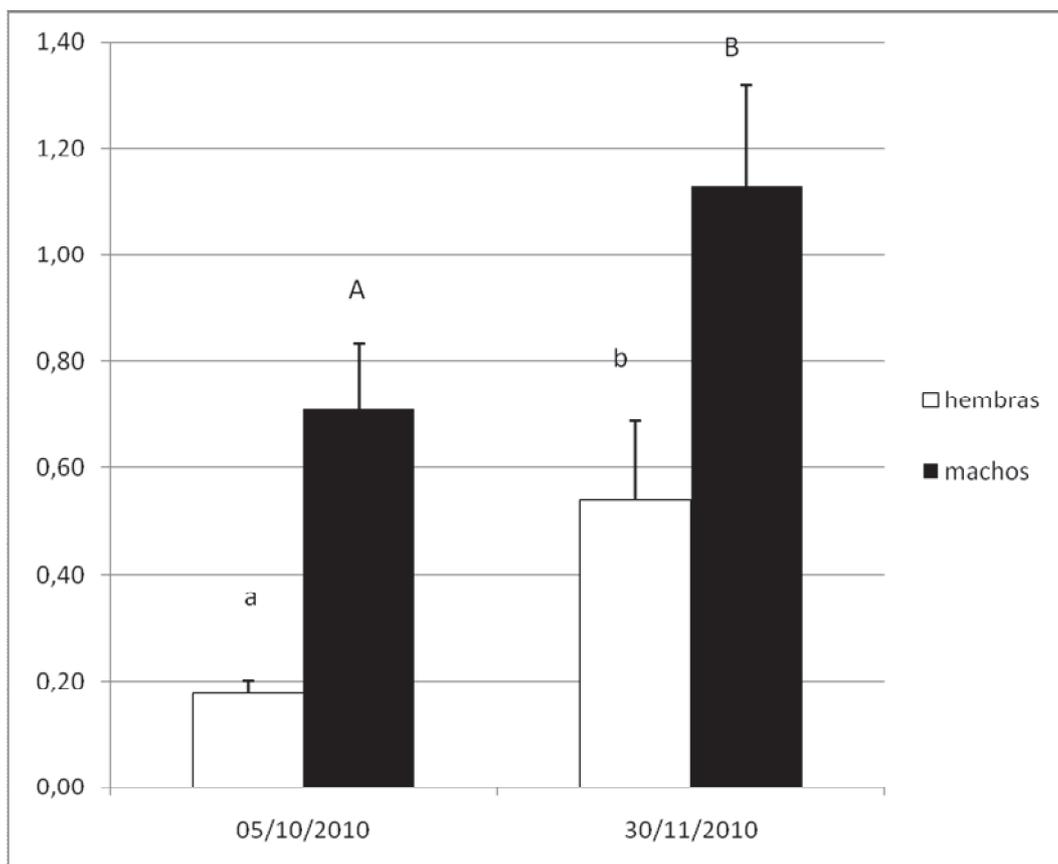


Figura 3. Índice del complejo espermatofoérico / ovario-oviductal del periodo de la siembra (05/10/2010) hasta terminación (30/11/2010) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*).

Efecto del fotoperiodo sobre el crecimiento y la maduración

Objetivo: Determinar el efecto de un fotoperiodo de invierno aplicado en primavera en la incidencia de maduración durante el engorde.

Material y métodos.

Estabulación de los pulpos:

Se realizó una prueba de engorde de hembras de pulpo en dos condiciones de fotoperiodo. Se dispuso de un tanque rectangular (5.5 x 0.75 x 0.5 m, volumen 2.050L, tanques 10 y 8), compartimentados en tres secciones con entrada de agua independiente en cada compartimento. El tanque iba recubierto con un toldo de lona aislante superior para controlar el fotoperiodo. En la parte superior interna de las lonas, se instalaron luces fluorescentes blancas con un horario programado de funcionamiento reproduciendo la iluminación natural. Se aplicó un fotoperiodo de "invierno" (LO 9:15). Pusimos en forma aleatoria tres hembras en unos compartimentos y tres machos en otro compartimento del tanque. La renovación del tanque fue de 600 litros/hora. La experiencia empezó el 5 de mayo cuando los pulpos fueron distribuidos al azar entre los dos compartimentos. La experiencia del fotoperiodo terminó el 30 de junio (56 días).

Se suministró diariamente, de domingo a viernes, una dieta de Boga o cangrejo. Los sábados se mantuvieron en ayuno. El domingo y miércoles se dio una ración de cangrejo del 15% de la biomasa y el lunes, martes, jueves y viernes se daba una ración de Boga del 10% de la biomasa (dependiendo de la temperatura). El suministro del alimento en cada compartimento era a primera hora de la mañana (8:30h), y se procedía a la recogida de restos y pesada del mismo a las 15:00h.

Obtención de datos de madurez:

El día de siembra 5 de mayo, se seleccionaron al azar y se sacrificaron 5 hembras. Al final de la experiencia se sacrificaron las 6 hembras en el grupo de fotoperiodo invierno y 7 hembras de talla similar de la pesca que tuvieron condiciones naturales y fueron considerados como un "control". Con todos los pulpos, se procedió a su disección y extracción de muestras para determinar el estado de madurez sexual (ver arriba). Se determinaron los siguientes parámetros de madurez: índice del complejo espermatofórico (machos), índice ovario-oviductal (hembras) y escala de madurez macroscópica (ver arriba). Todas las medias se expresan con la desviación estándar. Por cada distribución de datos, se determinó la normalidad con el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza con la prueba de Bartlett. Las distribuciones normales y homogéneas (peso y índice de madurez) y las distribuciones de la escala de madurez macroscópica que no fueron normal ni homogénea (pero además con muchos valores iguales "tied" que complica un análisis non paramétrico) fueron comparados con un ANOVA de una vía y un comparación múltiple de Bonferroni t-test. Las distribuciones que no presentaron distribuciones normales (índice ovario-oviductal) fueron comparadas con la prueba Kruskal-Wallis y un comparación múltiple de Dunn's (Sigma Stat, versión 3.1, Systat Software Inc., USA).

Resultados.

Durante el ensayo, se murió una hembra. Las hembras crecieron significativamente de 1549 ± 319 g de la fecha inicial, 5 de mayo a 2.568 ± 357 g al final de la experiencia el 30 de junio (figura 4). Los parámetros de maduración; escala de madurez macroscópica (Figura 5) e índice de madurez sexual (Figura 6), cambiaron significativamente del muestreo inicial (05/05/2010) al final de la experiencia (30/06/2010). La escala de madurez macroscópica (Figura 4) aumentó significativamente de 1.5 ± 0.6 (05/05/2010) a 3 ± 0 al final de ensayo (30/06/2010) lo cual fue igual al índice de la pesca. El índice ovario-oviductal (Figura 6), aumentó significativamente de 1.4 ± 1.4 (05/05/2010) a 7.5 ± 3 al final de ensayo (30/06/2010) lo cual no fue diferente al índice de la pesca, 9.2 ± 4.6 .

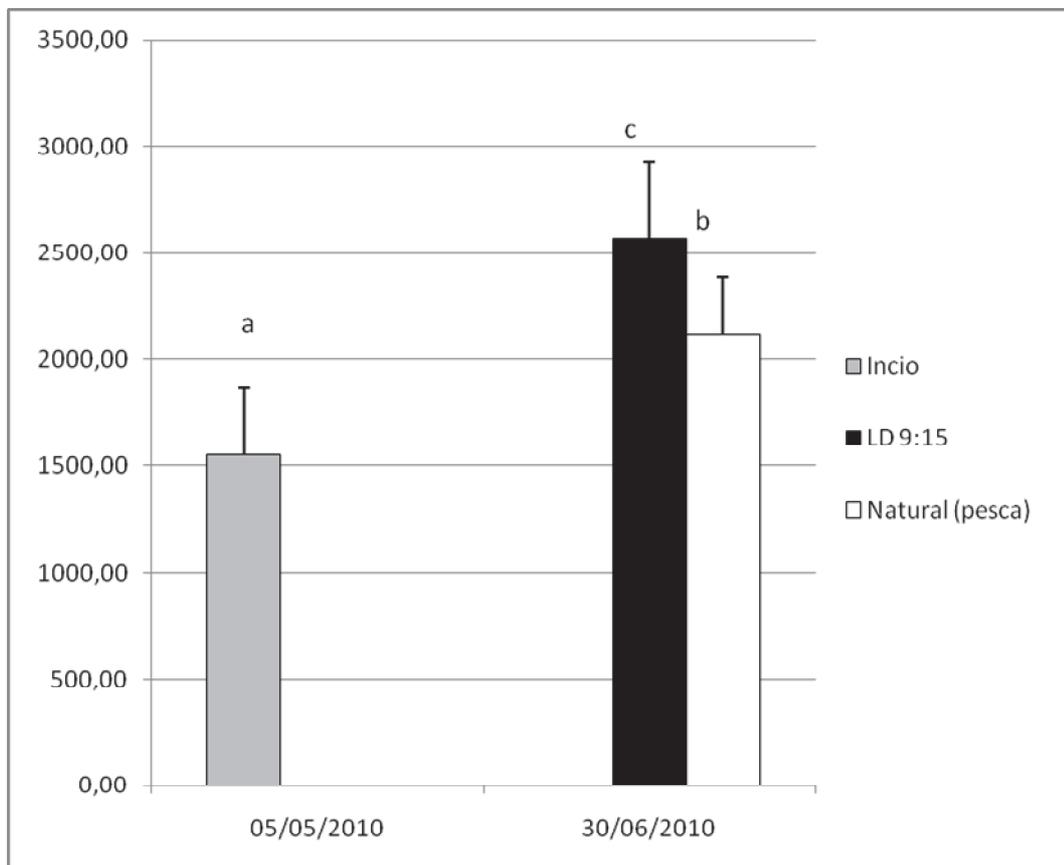


Figura 4. Crecimiento (g) de la siembra (05/05/2010, en gris) hasta la terminación (30/06/2010) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con tratamiento de fotoperiodo "Invierno" de LO 9:15 (en negro) y pulpos de la pesca, natural (en blanco). Diferente letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

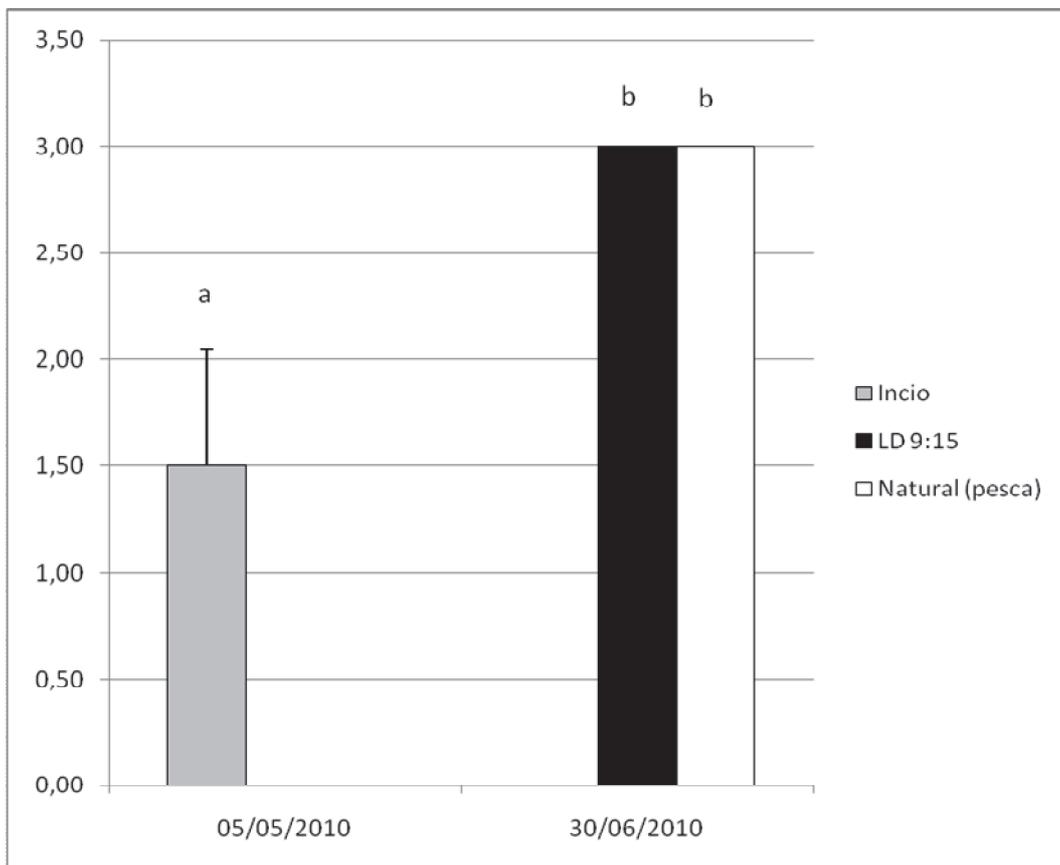


Figura 5. Escala de madurez macroscópica (inmaduro 1 a maduro 3 y post freza 4) de la siembra (05/05/2010, en gris) hasta la terminación (30/06/2010) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con tratamiento de fotoperiodo "Invierno" de LO 9:15 (en negro) y pulpos de la pesca, natural (en blanco). Diferente letras indican diferencias significativos ($P < 0.05$).

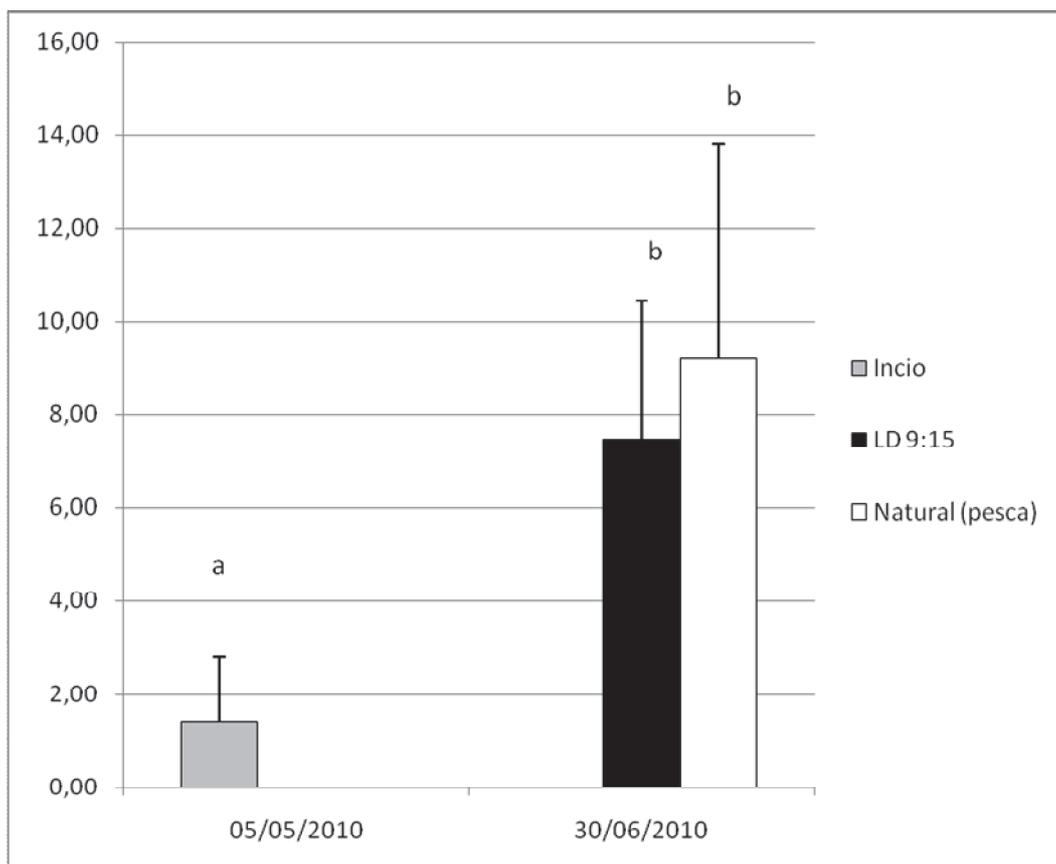


Figura 6. Índice ovario-oviductal de la siembra (05/05/2010, en gris) hasta la terminación (30/06/2010) de un ensayo de engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) con tratamiento de fotoperiodo “Invierno” de LO 9:15 (en negro) y pulpos de la pesca, natural (en blanco). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Conclusiones.

El aumento en madurez durante la engorde de otoño fue menor comparado el de primavera. Sin embargo, la aplicación de un fotoperiodo de invierno (LO 9:15) durante primavera de acuerdo al resultado de 2009 presentó madurez similar al madurez del pulpo en condiciones naturales de primavera. Se puede concluir que aplicando un fotoperiodo de invierno a partir del de mayo y en las condiciones escritas, no afecta en modo alguno al desarrollo de madurez del pulpo.

Bibliografía.

- Dia M, Goutschine A (1990) Échelle de maturité sexuelle du poulpe (*Octopus vulgaris*, Cuvier, 1797) des eaux mauritaniennes. Bull Cent Nat Rech Oceanogr Peches 21:1-6
- Fernández-Nuñez MM, Hernández-González CL, Raya CP, Balguerías E (1996) Reproductive biology of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 from north western African coast (21°N-26°N). Shellfish Committee C. M./K:15. ICES (International Council for the Exploration of the Sea), Copenhagen, Denmark
- Guerra, A., 1975. Determinación de las diferentes fases del desarrollo sexual de *Octopus vulgaris* Lamarck, mediante un índice de madurez. Investigaciones pesqueras 39 (2): 397-416.

3.2.5.2. Determinación de los periodos de maduración gonadal durante el proceso de engorde y efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento y la maduración en Canarias.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

La elevada tasa de crecimiento y bajo índice de conversión del pulpo común *O. vulgaris* le convierten en una especie con gran potencial para la acuicultura. Hasta la fecha se han realizado diversos ensayos a escala semi-industrial con resultados prometedores (Socorro *et al.* 2005; Chapela *et al.* 2006; Rodríguez *et al.* 2006; García García *et al.* 2009). Uno de los factores que más afectan a la rentabilidad del cultivo del pulpo es el desarrollo gonadal. Las hembras mueren una vez que las paralarvas eclosionan (Guerra, 1992), pudiendo perder hasta el 30-60% de su peso inicial durante el desarrollo embrionario (Iglesias *et al.*, 2000). En cuanto a los machos, Hernández-García *et al.* (2002) ha sugerido que tras la cópula éstos también mueren, una vez que han cumplido su misión dentro del ciclo de vida corto de esta especie.

La información disponible sobre maduración gonadal de pulpo salvaje es abundante (Fernández Nuñez *et al.*, 1996; Quetglas *et al.*, 1998; Hernández García *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2002; Rodríguez De la Rúa *et al.*, 2005; Otero, 2006), mientras que pocos trabajos han evaluado el efecto de la maduración gonadal bajo condiciones de cultivo (Cerezo *et al.*, 2007). El objetivo del presente experimento es evaluar varios índices gonadales, tanto macro como microscópicos, en machos y hembras cultivados juntos y separados. Finalmente se discute el efecto de dos dietas sobre la maduración gonadal.

Material y Métodos.

Diseño experimental (Tabla 1):

- Machos y hembras cultivados separados: 11 machos (M₁, M₂) y 15 hembras (F₁, F₂, F₃) alojados en 5 tanques circulares, densidad inicial de 9.9±1.2 kg/m³.
- Machos y hembras cultivados juntos: dos jaulas de acero inoxidable galvanizado (M:F_{control}, M:F_{boga}) (3x1.5x3 m), volumen total de 10 m³. La proporción de machos:hembras fue de 4:1 en ambos tratamientos y la densidad inicial fue 10.9±0.2 kg/m³.

Tabla 1: Sistema de cultivo, nombre del tratamiento (Trat.), Numero de tanques/jaulas, Número de pulpos (N), Número de machos (N machos), Número de hembras (N hembras), Peso inicial de los machos (g.) (P_M) y Peso inicial de las hembras (g.) (P_H)

Sistema de cultivo	Trat.	Numero de tanques/jaulas	NN	N machos	N hembras	P _M (g.)	P _H (g.)
Tanque	M _n	2	11	11	0	1122±267	-
	F _n	3	15	0	15	-	865±226
Jaula flotante	M:F _{control}	1	109	88	21	1041±249	916±322
	M:F _{boga}	1	105	84	21	1060±326	888±267

Condiciones de cultivo:

En todos los casos se suministraron refugios (T de PVC de 160 mm de diámetro) y malla de sombreo. Se suministraron 2 dietas: dieta "control" 60-40% cangrejo *Portunus pelagicus*-Boga de descarte *Boops boops* en los tanques y una de las jaulas, y dieta de Boga de descarte en la otra jaula. La alimentación fue *ad libitum* 6 veces por semana, con una tasa de alimentación inicial del 6% para la boga y el 10% para el cangrejo, ajustándose posteriormente según demya. La temperatura y oxígeno disuelto medio del agua fue de $18.4 \pm 0.4^\circ\text{C}$ y 7.1 ± 0.2 ppm en tanques y $19.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ y 7.0 ± 0.3 ppm en las jaulas respectivamente.

Muestras:

El experimento duró 11 semanas. Entre 5 y 6 ejemplares fueron muestreados y diseccionados al hazar de cada tratamiento a las 7 semanas y todos los supervivientes en enero. Paralelamente, las bajas observadas en las jaulas flotantes fueron retiradas diariamente para su disección. Finalmente, 12 ejemplares salvajes (11 machos y 1 hembra) fueron diseccionados durante el período de estudio.

Índices calculados:

La mortalidad se registró diariamente. Tras el sacrificio mediante inmersión en agua con hielo, todos los animales fueron pesados y diseccionados. De cada ejemplar se determinó el sexo, el peso total (PT), el peso de la glándula digestiva (P_{gd}), el peso de las gónadas y de sus glándulas por separado: ovarios (P_{ov}) o testículos (P_t), y peso de los oviductos y sus glándulas (P_{ovd}) o del complejo de la bolsa de Needham (P_n). Con estos datos se calcularon los siguientes índices en machos: "Índice de madurez sexual" (Guerra, 1975) (M_M): $M_M = P_n / (P_n + P_t)$; e "Índice gonadosomático" (IGS_M) (Otero, 2006): $IGS_M = (P_n / PT - P_n) \times 100$. En cuanto a las hembras, se calcularon los siguientes índices: "Índice de madurez sexual" (Guerra, 1975) (M_H): $M_H = P_{ovd} / (P_{ovd} + P_{ov})$; e "Índice gonadosomático" (IGS_H) (Otero, 2006): $IGS_H = (P_{ov} / PT - P_{ov}) \times 100$. El Índice de la Glándula Digestiva (IGD) también se calculó en cada ejemplar: $IGD = (P_{gd} / PT) \times 100$. Finalmente, el estado de maduración fue asignado macroscópicamente en cada ejemplar diseccionado (I, inmaduro; II, en maduración; III, maduro, y IV, post-freza) (Dia y Goutschine, 1990).

Análisis histológico:

Tanto la gónada como la glándula digestiva de los ejemplares sacrificados en las jaulas fueron analizadas histológicamente. Ambos órganos fueron fijados en formol tamponado (10%), incluidos en bloques de parafina y teñidos con hematoxilina y eosina (García de Moral, 1993).

Análisis estadístico:

La media y la desviación estándar fue calculada para el peso inicial de cada tratamiento. Los datos fueron comparados mediante un análisis ANOVA de una vía (Tukey). Se consideró diferencia estadística cuando $P < 0.05$ (Sokal y Rolf, 1995).

Resultados.

No se encontraron diferencias estadísticas en cuanto al peso inicial (Tabla 1). Los valores medios para cada índice calculado en machos y hembras se muestran en la tabla 2. El número de individuos diseccionados por tratamiento, sacrificados o recolectados muertos, el peso final, IGS y el IGD se muestran en la tabla 3 para los machos y en la 4 para las hembras. En las hembras, M_H

desciende con la madurez para aumentar drásticamente tras la cópula, al contrario de lo que sucede con el IGS y el IGD. En los machos no se encontraron ejemplares inmaduros o en maduración en ninguno de los tratamientos. M_M aumenta entre la fase madura y post-freza, el IGD disminuye tras la cópula y el IGS presenta valores similares. Los tratamientos mantenidos en tanques (sexos separados) no presentaron mortalidad, mientras que ésta ascendió hasta el 77% en el tratamiento de machos y hembras mantenidos juntos en jaulas flotantes independientemente de la dieta.

Tabla 2: Valores medios (\pm D. E.) para cada índice calculado en machos y hembras, índice de madurez sexual (M), índice gonadosomático (IGS) e índice de la glándula digestiva (IDG)

	Estado de madurez	Descripción	M	IGS (%)	IDG (%)
Hembras	I	Inmaduros	0.21 \pm 0.06	0.20 \pm 0.09	4.07 \pm 0.48
	II	En maduración	0.11 \pm 0.02	1.06 \pm 1.15	4.21 \pm 1.70
	III	Maduros	0.05 \pm 0.02	3.45 \pm 2.05	4.52 \pm 1.35
	IV	Post-freza	0.47 \pm 0.06	0.46 \pm 0.14	0.98 \pm 0.32
Machos	III	Maduros	0.54 \pm 0.08	0.39 \pm 0.10	2.71 \pm 1.25
	IV	Post-freza	0.78 \pm 0.05	0.58 \pm 0.17	1.14 \pm 0.58

Tabla 3: Número de machos diseccionados (sacrificados o muertos en cultivo) (N), peso final (PT), Índice de madurez sexual (M), índice gonadosomático (IGS) e índice de la glándula digestiva (IDG) en diciembre y enero (valores medios \pm D. E.)

			N	PT	M	IGS (%)	IDG (%)	
Diciembre	Sacrificados	M_1	5	1648 \pm 529	0.52 \pm 0.12	0.43 \pm 0.08	2.93 \pm 1.61	
		M:F _{control}	6	2943 \pm 1369	0.66 \pm 0.16	0.37 \pm 0.10	1.89 \pm 1.64	
		M:F _{boga}	6	2117 \pm 596	0.65 \pm 0.16	0.44 \pm 0.06	1.74 \pm 1.16	
		Salvajes	4	1187 \pm 78	0.43 \pm 0.09	0.38 \pm 0.17	4.39 \pm 1.42	
	Muertos en cultivo	M:F _{control}	3	1400 \pm 453	0.76 \pm 0.07	0.61 \pm 0.13	1.52 \pm 0.86	
		M:F _{boga}	8	1624 \pm 609	0.77 \pm 0.10	0.65 \pm 0.26	1.20 \pm 0.40	
	Enero	Sacrificados	M_2	6	2168 \pm 777	0.50 \pm 0.09	0.45 \pm 0.16	3.77 \pm 1.15
			M:F _{control}	4	3021 \pm 1373	0.65 \pm 0.12	0.36 \pm 0.07	1.70 \pm 0.83
M:F _{boga}			2	2957 \pm 930	0.59 \pm 0.11	0.41 \pm 0.10	2.52 \pm 1.62	
Salvajes			7	1883 \pm 344	0.41 \pm 0.04	0.33 \pm 0.09	3.46 \pm 0.68	
Muertos en cultivo		M:F _{control}	4	2358 \pm 1250	0.73 \pm 0.10	0.52 \pm 0.14	1.28 \pm 0.70	
		M:F _{boga}	2	1697 \pm 514	0.80 \pm 0.06	0.57 \pm 0.09	1.06 \pm 0.37	

Tabla 4: Número of hembras diseccionadas (sacrificados o muertos en cultivo) (N), peso final (PT), Índice de madurez sexual (M), índice gonadosomático (IGS) e índice de la glándula digestiva (IDG) en diciembre y enero (valores medios \pm D. E.).

			N	PT	M	IGS (%)	IDG (%)
Diciembre	Sacrificadas	F ₁	5	1348 \pm 349	0.12 \pm 0.11	2.99 \pm 2.89	4.73 \pm 0.44
		M:F _{control}	0	-	-	-	-
		M:F _{boga}	0	-	-	-	-
		Salvajes	0	-	-	-	-
	Muertas en cultivo	M:F _{control}	4	831 \pm 163	0.24 \pm 0.18	1.53 \pm 1.57	1.23 \pm 0.62
		M:F _{boga}	4	861 \pm 285	0.37 \pm 0.21	1.42 \pm 2.07	0.97 \pm 0.40
Enero	Sacrificados	F ₂₋₃	10	2009 \pm 188	0.10 \pm 0.03	0.87 \pm 0.73	4.92 \pm 0.64
		M:F _{control}	1	800	0.42	0.75	1.28
		M:F _{boga}	1	1120	0.45	0.49	0.61
		Salvajes	1	1192	0.08	0.65	4.71
	Muertos en cultivo	M:F _{control}	5	923 \pm 123	0.44 \pm 0.04	0.35 \pm 0.07	0.99 \pm 0.23
		M:F _{boga}	3	745 \pm 176	0.55 \pm 0.03	0.56 \pm 0.10	1.24 \pm 0.56

Los resultados de la evaluación macroscópica de las gónadas se pueden ver en la figura 1-2 para los machos y 3-4 para las hembras. En el caso de los machos, ejemplares maduros se encontraron independientemente del tratamiento durante todo el período de estudio, mientras que los ejemplares recolectados muertos independientemente del sexo se encontraron mayoritariamente en estado post-reproductivo. En contraste, los machos sacrificados mostraron un menor % de ejemplares en estado post-reproductivo. En cuanto a las hembras, los muestreos al azar en diciembre no aportaron ningún dato y las hembras salvajes fueron muy escasas durante el período de estudio. Sin embargo, las hembras muestreadas de las jaulas, donde fueron mantenidas con machos, estaban mayoritariamente en estado post-reproductivo lo que contrasta con las hembras mantenidas en tanques en ausencia de machos, que presentaron un 40 y un 80% de hembras inmaduras en diciembre y en enero respectivamente.

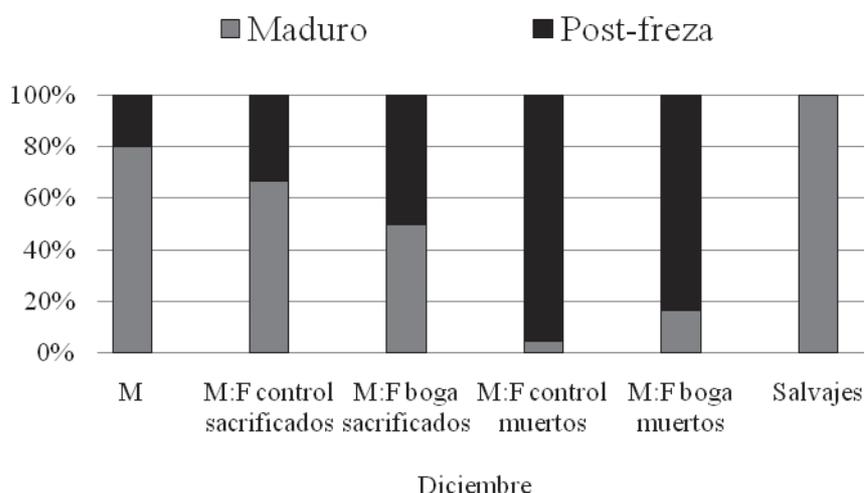


Fig. 1: Estados de maduración macroscópica (Dia y Goutschine, 1990) en diciembre en pulpos macho.

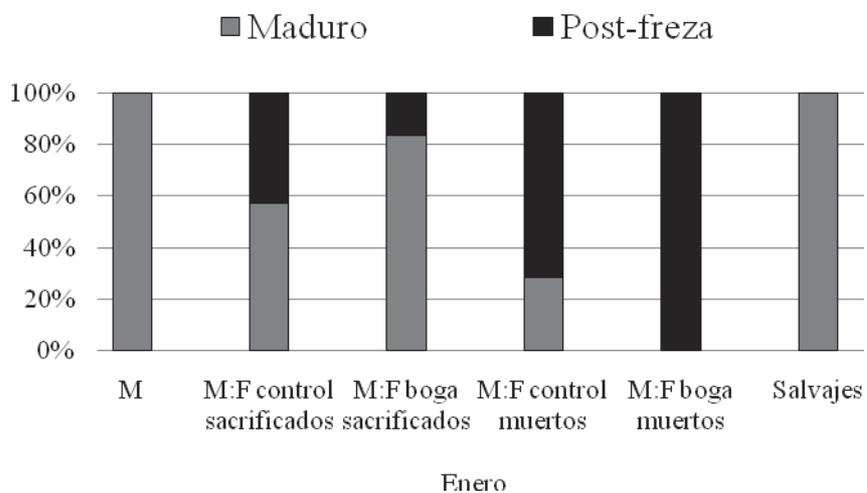


Fig. 2: Estados de maduración macroscópica (Dia y Goutschine, 1990) en enero en pulpos macho.

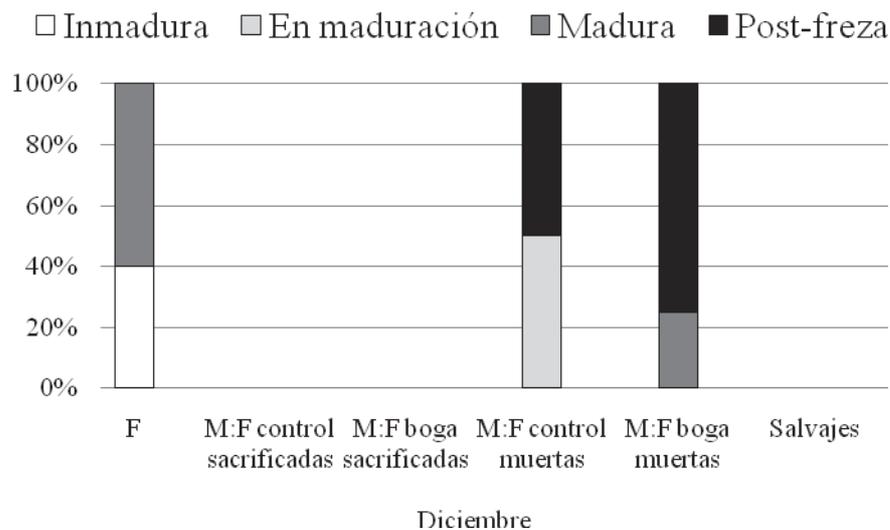


Fig. 3: Estados de maduración macroscópica (Dia y Goutschine, 1990) en diciembre en pulpos hembra.

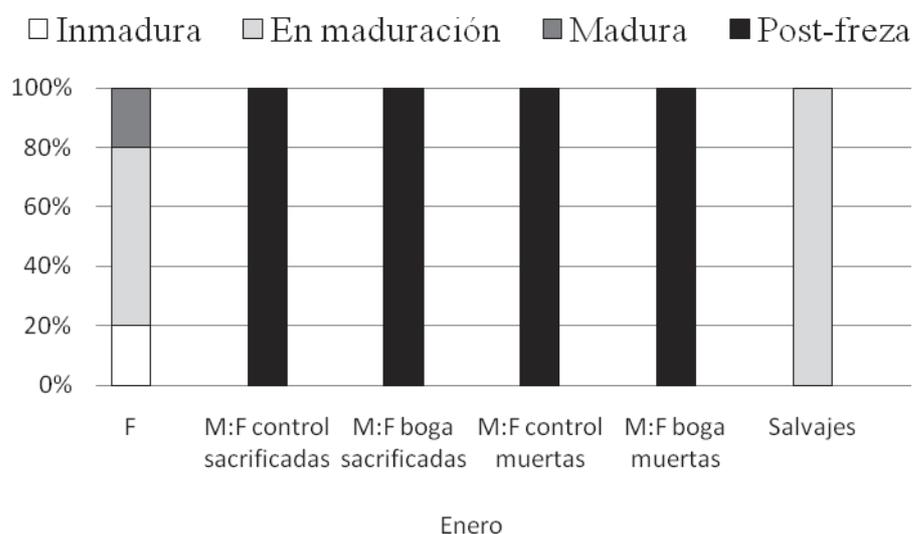


Fig. 4: Estados de maduración macroscópica (Dia y Goutschine, 1990) en enero en pulpos hembra.

El IGD en ejemplares alimentados con dieta control fue más bajo en ejemplares en estado post-reproductivo, tanto en machos como en hembras (Fig. 5), y presentó una correlación negativa con el índice M (Fig. 6).

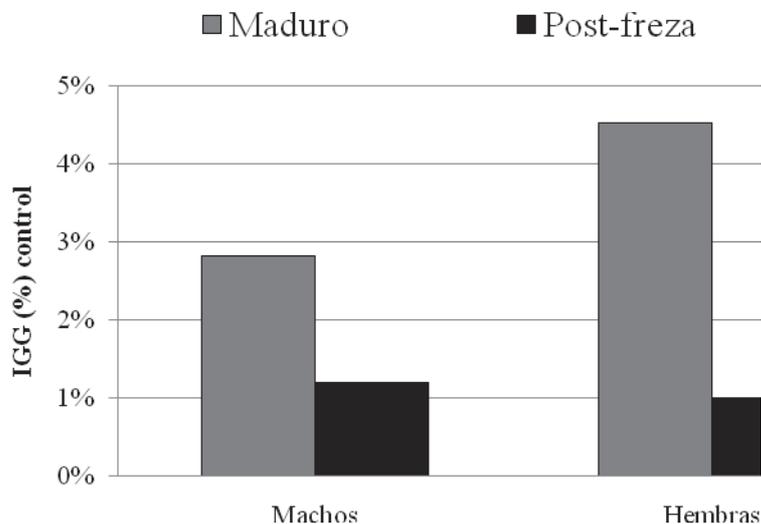


Fig. 5: Índice de la glándula digestiva (IGD, %) en pulpos alimentados con la dieta control en estado maduro y post-freza.

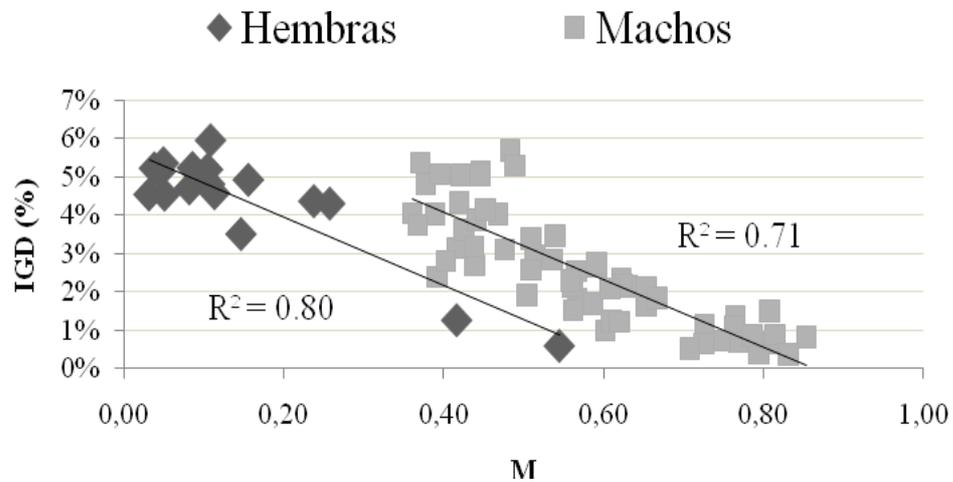


Fig. 6: Relación entre DGI y M en pulpos macho y hembra sacrificados.

Los cortes histológicos de la Fig. 7 muestran imágenes de testículo y glándula digestiva de ejemplares en fase madura y post-reproductiva. El testículo maduro presenta espermatogonias, espermatocitos y espermátidas, además de un gran número de espermatozoos (a), mientras que en la fase post-reproductiva el bajo número de espermatozoos unidos a abundantes espacios vacíos en el lumen indican que éstos han sido liberados (b). En cuanto a la glándula digestiva, los ejemplares en estado post-reproductivo presentan gran vacuolización degenerativa en el parénquima de este órgano (d), proceso que no se aprecia en ejemplares sexualmente maduros (c).

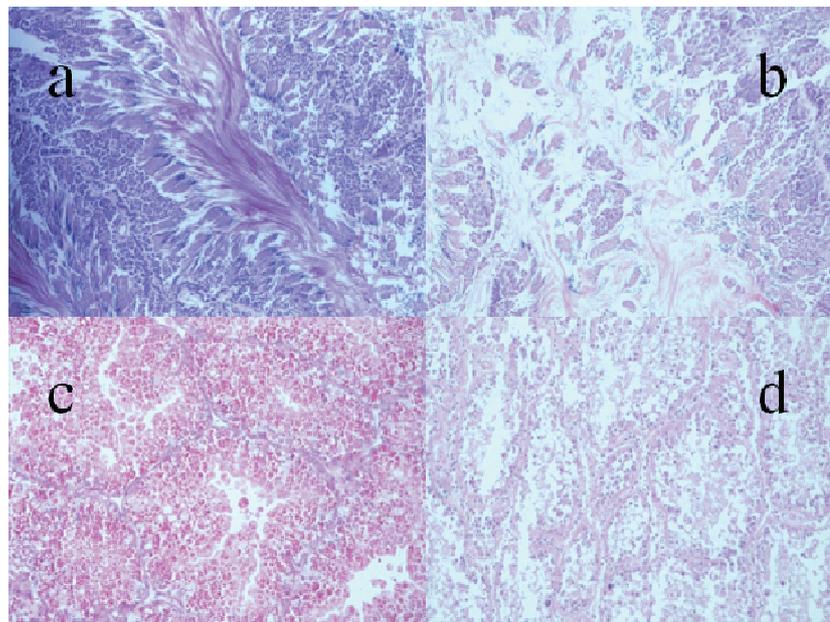


Fig. 7: Secciones transversales (10x) de testículo y glándula digestiva en diferentes etapas de desarrollo gonadal. (a) Testículo maduro; (b) Testículo post-freza; (c) Glándula digestiva madura; (d) Glándula digestiva post-freza.

Discusión.

Los procesos reproductivos ocurren frecuentemente en *O. vulgaris* mantenido en cautividad en cualquier época del año (Mangold y Boletzky, 1973; Iglesias *et al.*, 2000; Estefanell, 2006). En el caso concreto de las Islas Canarias, el período reproductivo del pulpo común se extiende a lo largo de todo el año, con 2 picos de máxima actividad, uno en enero-julio y otro en octubre-noviembre (Hernández-García *et al.*, 2002). En el presente experimento se encontraron machos maduros en todos los tratamientos (Fig. 1 y 2), lo que concuerda con experiencias previas en cautividad (Mangold y Boletzky, 1973; Cerezo *et al.*, 2007) y con los abundantes datos de ejemplares salvajes (Guerra, 1979; Quetglas *et al.*, 1998; Caverivière *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2002; Carvalho y Sousa, 2003; Oosthuizen y Smale, 2003; Rodríguez De la Rúa *et al.*, 2005; Otero, 2006). En contraste, las hembras aisladas mostraron un mayor porcentaje de ejemplares inmaduros o en maduración (Fig. 3 y 4) respecto a las mantenidas con machos, lo que sugiere que la presencia de los machos podría acelerar la maduración sexual en las hembras.

El bajo número de hembras capturadas en muestreos intermedios en las jaulas podría deberse a fenómenos reproductivos, ya que las hembras permanecen en las guaridas protegiendo y ventilando los huevos durante el desarrollo embrionario (Guerra, 1992). En ambas jaulas se observaron muchos ejemplares en estado post-reproductivo (Fig. 1-4) al contrario que Cerezo *et al.* (2007). En nuestro experimento se observaron cópulas desde el primer día (Iglesias *et al.*, 2000), en ocasiones incluso 2 machos fueron visto introduciendo el hectocótilo a la vez en la misma hembra. La mayoría de los pulpos muertos durante el cultivo que fueron diseccionados se encontraban en estado post-reproductivo, lo que sugiere en las condiciones descritas una clara relación entre procesos reproductivos y mortalidad, referido por primera vez en jaulas flotantes, y que está de acuerdo con observaciones previas en tanques (Hernández García *et al.*, 2002).

Los cortes histológicos confirmaron los estados de madurez asignados macroscópicamente y mediante el índice M. La presencia de espamatogonias y espermatozoos en la pared tubular y de espermátidas y espermatozoos en el lumen central evidencian estados de madurez o en maduración en *O. vulgaris*, y la presencia de espacios vacíos en el lumen indican que los espermatozoides han sido liberados tras la cópula (Rodríguez De la Rúa *et al.*, 2005).

En el presente experimento IGS e IGD aumentaron con la madurez en las hembras mientras que este fenómeno no es claro en machos (tabla 2) (Silva *et al.*, 2002; Rodríguez De la Rúa *et al.*, 2005; Otero, 2006). El IGD fue significativamente mayor en ejemplares maduros que en estado post-reproductivo y se correlacionó inversamente con M en ambos sexos, de acuerdo con Otero (2006). De hecho, el descenso en IGD en cefalópodos en estado post-reproductivo ha sido observado en *Octopus mimus* (Cortez *et al.*, 1995) y *Sepia officinalis* (Castro *et al.*, 1992).

La energía necesaria para la producción de huevos en *O. vulgaris* proviene de la dieta (Rosa *et al.*, 2004; Otero, 2006). Sin embargo, en el presente experimento la maduración sexual de machos y hembras no se vio afectada por la dieta, ya que la mayoría de los ejemplares diseccionados se encontraron en estado maduro o post-freza.

Como conclusión, en las condiciones descritas se observó una clara relación entre mortalidad y fenómenos reproductivos durante el cultivo, tanto en machos como en hembras. El deterioro se confirmó mediante cortes histológicos (Fig. 7) y mediante un drástico descenso en el peso de la glándula digestiva en los ejemplares en estado post-reproductivo. Como consecuencia, la

separación de sexos bajo condiciones de cultivo debe ser evaluada para reducir la mortalidad y asegurar la rentabilidad del cultivo de esta especie.

3.2.5.3 Efecto de la alimentación con boga de descarte en la maduración sexual en pulpo común.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

La información disponible sobre maduración gonadal de pulpo salvaje es abundante (Fernández Nuñez *et al.*, 1996; Hernández García *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2002; Rodríguez De la Rúa *et al.*, 2005; Otero, 2006), mientras que pocos trabajos han evaluado el efecto de la maduración gonadal bajo condiciones de cultivo (Cerezo *et al.*, 2007). El objetivo del presente experimento es evaluar el efecto de la alimentación en la maduración gonadal del pulpo.

La elevada tasa de crecimiento y bajo índice de conversión del pulpo común *O. vulgaris* le convierten en una especie con gran potencial para la acuicultura. Hasta la fecha se han realizado diversos ensayos a escala semi-industrial con resultados prometedores (Socorro *et al.* 2005; Chapela *et al.* 2006; Rodríguez *et al.* 2006; García García *et al.* 2009). Uno de los factores que más afectan a la rentabilidad del cultivo del pulpo es el desarrollo gonadal. Las hembras mueren una vez que las paralarvas eclosionan (Guerra, 1992), pudiendo perder hasta el 30-60% de su peso inicial durante el desarrollo embrionario (Iglesias *et al.*, 2000). En cuanto a los machos, Hernández-García *et al.* (2002) ha sugerido que tras la cópula éstos también mueren, una vez que han cumplido su misión dentro del ciclo de vida corto de esta especie.

Material y Métodos.

Se diseñó un experimento de engorde en tanques rectangulares de 1500 litros, fotoperíodo natural aunque con intensidad de luz reducida, evaluando 2 dietas: CONTROL (50% boga descarte - 50% cangrejo) y SOLO BOGA descarte. Se utilizaron 2 tanques por dieta con 10 ejemplares por tanque, 8 machos y 2 hembras. La temperatura a lo largo de las 6 semanas que duró el experimento fue de $22,6 \pm 0,4$ y el oxígeno de $5,9 \pm 0,1$ ppm.

El proyecto planeaba la extracción de un número de ejemplares cada 30 días pero el limitado número de animales unido a la elevada mortalidad limitó la obtención de muestras, generando datos únicamente los ejemplares que sobrevivieron a las 6 semanas. De cada ejemplar se anotó el sexo, el peso total (PT) y eviscerado (PE), el peso de las gónadas y de sus glándulas por separado: ovarios (Pov) o testículos (Pt), y peso de los oviductos y sus glándulas (Povd) o del complejo de la bolsa de Needham o espermatofórico (Pn). Con estas medidas se calculó el Índice de Madurez Sexual (Guerra, 1990) durante el mes noviembre según dieta (Tabla VIII) y a lo largo de noviembre y enero en condiciones de cultivo. Se valoró además el estado de madurez macroscópico (Dia & Goutschine, 1990) agrupando dichos datos según machos y hembras en condiciones de cultivo (Fig. 4 y 5) y según dieta (sólo machos) (Fig. 6).

Resultados y Discusión.

El peso inicial, supervivencia, IPD e IC aparecen en la tabla I. Cabe mencionar que el 100% de las hembras realizó la puesta durante el período de cultivo, por lo se consideró estado de

maduración III. Por tanto los datos referentes al Índice de maduración sexual se refieren solo a machos.

Tabla I: Parámetros de engorde en dieta Control-Boga

DIETA	Control	Boga descarte
Peso inicial (g.)	2015 ± 549	1959 ± 665
Supervivencia (%)	40	50
IPD (g./día)	17.1 ± 14,8	18,2 ± 4,3
IC	4.5 ± 0.3	2.3 ± 0.3

Tabla VI: Índice de Madurez Sexual (Guerra, 1990), sólo machos, en condiciones de cultivo en tanques durante el mes de noviembre 2007.

Dieta	M
CONTROL	0,70 ± 0,04
BOGA	0,62 ± 0,08

Tabla VII: Índice de Madurez Sexual (Guerra, 1990), sólo machos, en condiciones de cultivo en tanques durante los meses de noviembre 2007 y enero 2008.

Mes	M
Noviembre	0,66 ± 0,08
Enero	0,58 ± 0,06

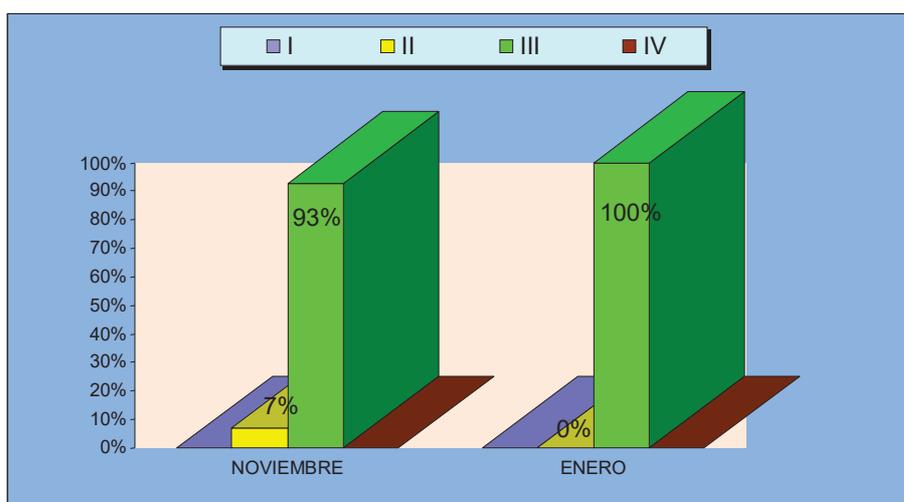


Fig. 4: Estado de maduración gonadal (Dia & Goutschine, 1990) en machos en condiciones de cultivo.

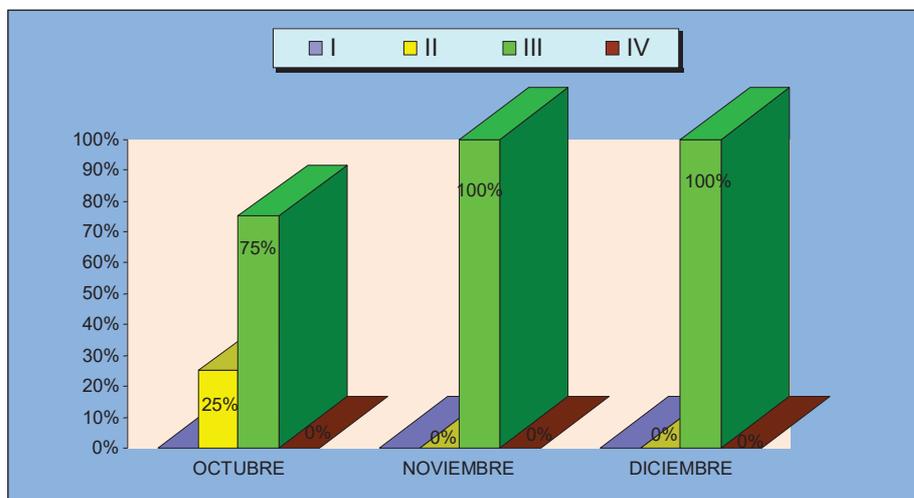


Fig. 5: Estado de maduración gonadal en hembras (Dia & Goutschine, 1990) en condiciones de cultivo.

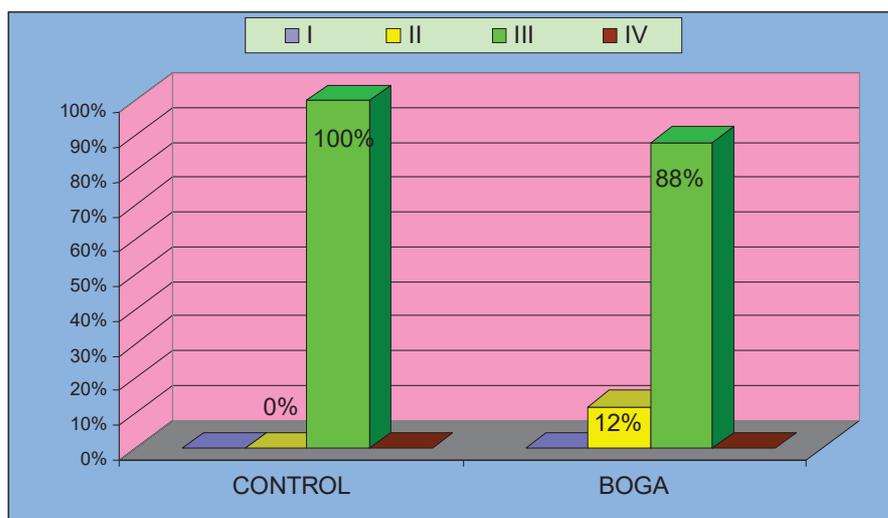


Fig 6: Estados maduración gonadal (Dia & Goutschine, 1990) sólo machos en noviembre según dieta en condiciones de cultivo.

3.3. Optimización de parámetros de engorde en jaulas.

3.3.1. Ensayos de engorde en jaulas en Canarias.

ICCM, C.A. de Canarias.

3.3.1.1 Engorde de pulpo común en jaulas: efecto de la dieta y la densidad inicial.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El engorde de pulpos en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006; García García *et al.*, 2009). Demostrada la viabilidad del cultivo de pulpo en Canarias mediante el uso de boga (*Boops boops*) proveniente de descartes de empresas locales de acuicultura (Socorro *et al.*, 2005), el presente trabajo evalúa el efecto conjunto de las dietas basadas en descartes y la densidad inicial de cultivo sobre el crecimiento y la mortalidad de esta especie.

Material y Métodos.

- Sistema de cultivo: jaulas flotantes de 5 m³ (Fig. 1)
- Número de ejemplares: 221, 50% marcaje PIT (Estefanell *et al.*, 2007) (Fig. 2)
- Relación machos:hembras 4:1
- Siembra escalonada: 1^{er} mes
- Duración: 15 semanas
- Tratamientos (Tabla I):
 - Baja y Alta densidad inicial: 10 y 17 kg/m³
 - 2 Dietas: “Boga de descarte” y “Control” (60-40% cangrejo *P. pelagicus*-Boga descarte)
- Cálculo de Incremento de Peso Diario (IPD, g./día) y mortalidad (%)
- 2 muestreos intermedios (N=20) a 7 y 11 semanas
- Datos de IPD tratados hasta semana 11
- T^a: 19.4±1.5°C; Oxígeno disuelto: 6.9±0.5 ppm

Resultados y Discusión.

El crecimiento no se vio afectado por la dieta pero sí por la densidad inicial de cultivo (Tabla I), aunque no se obtuvieron diferencias estadísticas. En general el IPD del presente estudio es similar a experiencias previas (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006; García García *et al.*, 2009). Por otro lado, la mortalidad hasta los 75 días fue más elevada en el tratamiento control (30%) (Fig. 3) que en el tratamiento de boga de descarte (12-20%), independientemente de la densidad de cultivo, igualándose a partir de este punto. El crecimiento queda reflejado en la figura 4. La elevada

mortalidad del presente experimento podría estar relacionada con la fisiología reproductiva de esta especie (Estefanell *et al.*, 2009) o con un balance inapropiado de las dietas suministradas.

Tabla I: Condiciones iniciales, muestreos intermedios y resultados del ensayo en jaulas.

	DIETA CONTROL		DIETA BOGA DESCARTE	
	JC1	JC2	JB2	JB1
N inicial (1 oct-1 nov)	51	61	59	50
N inicial machos	36	59	46	38
N inicial hembras	12	9	10	11
Duración experimento (días)	83-113			
Peso inicial (g.)	777 ± 113	1220 ± 174	1249 ± 252	769 ± 156
Peso inicial (g.) marcados	785 ± 102	1222 ± 161	1322 ± 259	754 ± 173
Densidad inicial (kg/m ³)	7,7	14,7	14,3	7,5
Sex ratio (macho:hembra)	4:1	7:1	6:1	5:1
Nº marcados	26	42	21	25
N Muestreo 18 nov	20	20	20	20
Individuos marcados 18 nov	10	9	3	10
Peso 18 nov	1643 ± 304	2018 ± 578	1929 ± 340	1432 ± 307
Peso 18 nov pulpos marcados	1502 ± 262	1654 ± 464	1820 ± 413	1356 ± 267
IPD 18 nov pulpos marcados	19,7 ± 7,7	21,4 ± 7,5	18,5 ± 5,0	20,1 ± 8,0
Mortalidad acumulada 18 nov	2%	5%	5%	10%
N Muestreo 18 dic	20	20	20	20
Individuos marcados 18 dic	7	8	4	12
Peso 18 dic	2265 ± 936	2186 ± 970	2191 ± 611	1861 ± 499
Peso 18 dic pulpos marcados	1917 ± 790	1866 ± 641	2000 ± 643	1893 ± 593
IPD 18 dic	20,7	5,6	8,7	14,3
IPD 18 dic pulpos marcados	19,0 ± 16,0	12,9 ± 9,3	13,0 ± 11,5	19,6 ± 9,4
Mortalidad acumulada 18 dic	34%	32%	20%	26%
N Muestreo final 22 ene	10	5	6	7
N machos	10	4	5	7
N hembras	0	1	1	0
Individuos marcados 22 ene	7	5	2	6
Peso 22 ene	2866 ± 1190	2888 ± 2022	2327 ± 852	3234 ± 1028
Peso 22 ene pulpos marcados	2810 ± 1275	2778 ± 1776	2060 ± 679	3027 ± 952
IPD 22 ene pulpos marcados	23,1 ± 15,2	18,7 ± 17,8	7,8 ± 3,0	24,8 ± 9,1
Mortalidad final	77%	86%	84%	80%
DGI (%) sacrificados	1,9 ± 1,2	1,5 ± 0,8	1,3 ± 0,9	2,9 ± 1,5

Nº días cultivo individuos marcados	63 ± 20	63 ± 17	75 ± 17	75 ± 12
Mortalidad calculada	77%	70%	69%	79%



Fig. 1: Jaulas flotantes de 3x3x1.5 m divididas en 2 subunidades



Fig. 2: Marcaje de pulpo con PIT subcutáneo

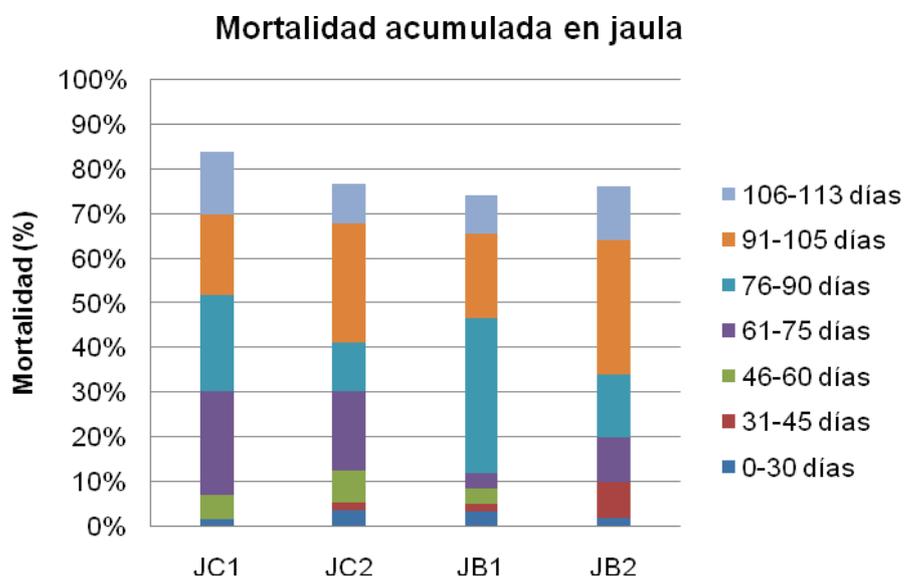


Fig. 3: Mortalidad acumulada durante el cultivo en jaulas

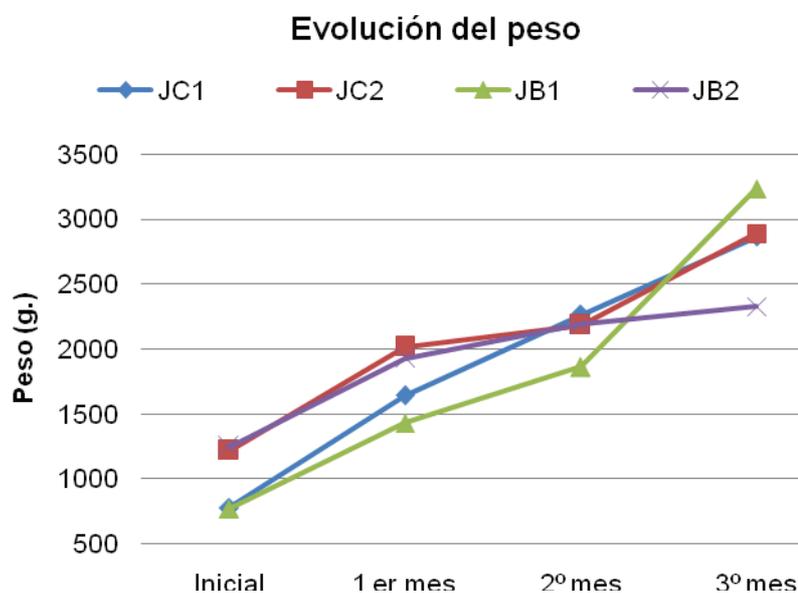


Fig. 4: Evolución del peso en experimento de cultivo en jaulas

Conclusiones.

- La inclusión de hasta un 60% de cangrejo *P. pelagicus* no afecta al crecimiento ni a la supervivencia en cultivo en jaulas.
- La densidad de cultivo más baja generó una menor mortalidad hasta los 75 días de cultivo y un mayor crecimiento.

- El crecimiento obtenido con boga de descarte de granjas marinas es de 600 g./mes, similar experiencias previas con dietas mixtas con crustáceos.
- Bajo las condiciones descritas, se recomienda limitar los ciclos de engorde a 2 meses y una densidad inicial de 10 kg/m³.

Bibliografía

- Estefanell *et al.*, 2007. Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 655-658.
- Estefanell *et al.*, 2009. Cephalopod International Advisory Council, 98.
- García García *et al.*, 2009. Aquaculture Research, 40: 1202-1212.
- Rodríguez *et al.*, 2006. Aquaculture, 254: 293-300.
- Socorro *et al.*, 2005. Actas del X Congreso Nacional de Acuicultura, 428-429.

3.3.1.2.- Evaluación de dos sistemas de cultivo: Individual y grupal.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

A pesar de los prometedores resultados en el engorde de pulpos salvajes en jaulas flotantes (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) la elevada mortalidad es un factor determinante para aumentar la rentabilidad del cultivo de esta especie. El presente trabajo pretende evaluar el efecto del sistema de cultivo, individual y grupal, sobre la mortalidad y el crecimiento, utilizando como alimento 2 dietas basadas en descartes.

Material y Métodos.

Se realizó un ciclo de engorde en 2 jaulas flotantes (Socorro *et al.*, 2005) donde se evaluaron 2 sistemas de cultivo, individual y grupal. Para la prueba individual se aislaron 8 machos en compartimentos de malla de PVC (110 l) situados en los extremos superiores de cada jaula. Paralelamente, en cada jaula se introdujeron 32 pulpos, sex ratio machos:hembras de 1.5:1 y densidad inicial de 9.5 k/m³. Las condiciones iniciales se resumen en la tabla I. Se suministraron 2 dietas, una a base de boga de descarte troceada y otra control (60-40% cangrejo *P. pelagicus*-Boga descarte). El stock de pulpos se agrupó en tanques rectangulares y todos los ejemplares fueron marcados con chip subcutáneo (Estefanell *et al.*, 2007). La duración del ciclo de engorde fue de 2 meses realizándose un muestreo intermedio de 15 ejemplares del cultivo grupal y los 8 compartimentos. La tasa de alimentación inicial fue el 6% para la boga y 10% para el cangrejo, ajustándose posteriormente según demanda. La temperatura y oxígeno disuelto medio fueron 18.3±0.3°C y 7.0±0.2 ppm respectivamente. Se calculó el incremento de peso diario (IPD=(P_f-P_i)/t), donde "P_f" es peso final, "P_i" es peso inicial y "t" es nº de días y el incremento de biomasa (%). La mortalidad se evaluó diariamente.

Resultados y discusión.

El IPD registrado por ambos sistemas de cultivo fue más elevado que en resultados previos (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006). El engorde grupal y la dieta control registraron mejores resultados de IPD, pero sin lograr diferencias estadísticas. Sin embargo, la mortalidad registrada en el engorde grupal generó un menor incremento de biomasa (Tabla I). Por otro lado, los machos mostraron un mejor crecimiento que las hembras (Fig. 1), lo que concuerda con Rey Méndez *et al.* (2003). La supervivencia del 100 % en el engorde individual plantea nuevas opciones para mejorar la rentabilidad económica del cultivo de esta especie.

Conclusiones.

- El incremento de biomasa fue superior en el engorde individual lo que plantea nuevas opciones para mejorar la rentabilidad económica del cultivo de esta especie
- El mayor crecimiento registrado por los machos plantea la posibilidad de realizar ciclos de engorde de sólo machos

- El marcaje individual permitió identificar ejemplares con crecimientos de más de 2500 g./mes, lo que pone de manifiesto el elevado potencial de esta especie.

Tabla I: Condiciones iniciales y datos de IPD, mortalidad e incremento de biomasa.

Sistema de cultivo	Individual		Grupal	
Dieta	Control	Boga desc.	Control	Boga desc.
Peso inicial (g.)	1465 ± 289	1451 ± 247	1534 ± 305	1432 ± 220
Peso final (g.)	3329 ± 580	2828 ± 473	3716 ± 1347	3257 ± 795
IPD (g./día)	31.1 ± 10.0	22.9 ± 6.6	37.3 ± 21.6	30.4 ± 12.8
Mortalidad (%)	0	0	28.0	21.9
Incremento biomasa (%)	127.2	94.9	67.8	73.4

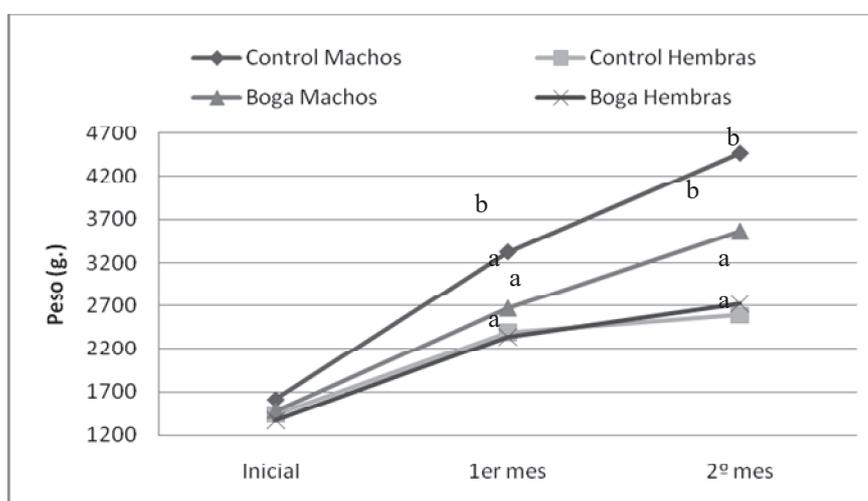


Fig. 1: Comparación peso machos-hembras en cultivo grupal

Bibliografía.

- Estefanell J., Roo J., Socorro J., Alonso J. M., Suárez M., Fernández- Palacios H., Izquierdo M. S. 2007. Evaluación de dos anestésicos y metodología de marcaje individual con microchip subcutáneo (PIT) en *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). In: Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 655-658
- Rey Méndez, M., Tuñón, E. y Luaces-Canosa, M. 2003. Estudio de los efectos de peso inicial y el sexo sobre comportamiento, la mortalidad y el crecimiento del pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) en cultivo industrial. Actas IX Congreso Nacional de Acuicultura. Cádiz, mayo 2003.
- Rodríguez C., Carrasco J.F., Arronte J.C. y Rodríguez M. 2006. "Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juveniles ongrowing in floating cages". *Aquaculture*, 254 (2006): 293-300.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Izquierdo, M. 2005. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado exclusivamente con boga (*Boops boops*) de descarte de la acuicultura. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes, 428-429.

3.3.1.3.- Evaluación de dos sistemas de cultivo en pulpos macho: efecto de la talla inicial y de la dieta.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El engorde de pulpos salvajes en jaulas flotantes ha dado resultados prometedores (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006) aunque el efecto de algunos parámetros sobre la rentabilidad del cultivo de esta especie aún están en fase de debate.

El siguiente experimento pretende evaluar 2 sistemas de cultivo, individual y grupal, alimentados con 2 dietas basadas en descartes, sobre el crecimiento y la mortalidad de pulpos machos. Asimismo, una de las dietas se ensayó con pulpos en 2 intervalos de tallas.

Material y Métodos

- Sistemas de cultivo:
 - “Grupal”: Jaulas flotantes, densidad inicial 10 kg/m³ (Fig. 1)
 - “Individual”: compartimentos de malla de PVC (Fig. 2)
- Dietas:
 - “Boga de descarte”
 - “Control” (60-40% cangrejo *P. pelagicus*-Boga descarte)
- Siembra de pulpos macho, marcados con PIT (Estefanell *et al.*, 2007), en 2 intervalos de talla:
 - G: 1600 g.
 - G+: 2250 g.
- 3 tratamientos: Control G, Control G+, Boga G+ (Tabla I)
- Agrupación del stock y siembra de cada tratamiento separadamente.
- Duración: 2 meses.
- Incremento de Peso Diario (IPD, g./día), Incremento de Biomasa (%) y mortalidad (%)
- Temperatura y Oxígeno disuelto medidos diariamente.

Resultados y Discusión

La dieta control generó un mayor crecimiento y una menor mortalidad que la dieta de boga a diferencia de experiencias previas en tanques (Estefanell *et al.*, 2008) y jaulas a 18°C (Estefanell *et al.*, 2009). En cuanto a talla inicial, no hubo diferencia en crecimiento y mortalidad en los tratamientos control G y G+.

La separación de sexos no mejoró el crecimiento ni la supervivencia hasta los 2 meses respecto a experiencias previas (Estefanell *et al.*, 2009), aunque la elevada mortalidad del tratamiento control G podría estar relacionada con la duración de la fase de agrupación. Por otra lado, la temperatura en los tratamientos G+ pudo haber afectado a la supervivencia (García García *et al.*, 2009), sin descartar la longevidad de los ejemplares. La Fig. 3 muestra un aumento de la

mortalidad en las últimas 2 semanas de cada tratamiento, que podría estar relacionado con una deficiencia nutricional de las dietas suministradas.

Por otro lado, el engorde en compartimentos generó una mortalidad superior a experiencias previas (Estefanell *et al.*, 2009), lo que sugiere que la densidad inicial de cultivo superior a 20 kg/m³ en pequeños volúmenes de confinamiento unido a un posible aumento de la temperatura superficial podría afectar a la supervivencia.

Tabla I: Condiciones iniciales y datos de IPD, mortalidad e incremento de biomasa

Sistema de cultivo	Individual	Grupal	Individual	Grupal	Individual	Grupal
Dieta	Control G		Control G+		Boga G+	
Agrupación stock	28		20		15	
Fecha siembra	16 abril		6 mayo		22 mayo	
N	8	30	8	20	8	22
Peso inicial	1608±231 ^a	1604±221 ^a	2341±245 ^b	2333±251 ^b	2153±294 ^b	2239±343 ^b
IPD (g./día)	17.4±5.2 ^a	30.0±13.1 ^b	-	47.0±18.9 ^b	16.8±5.1 ^a	16.2±12.4 ^a
Mortalidad (%)	25.0	36.7	100	35.0	75.0	63.6
Incremento biomasa (%)	20.7	9.7	negativo	27.5	negativo	negativo
Temperatura (°C)	19.3±0.8 ^a		20.5±1.3 ^{ab}		21.3±1.2 ^b	



Fig. 1: Jaulas flotantes de 3x3x1.5 m divididas en 2 subunidades



Fig. 2: Muestreo de compartimentos individuales.

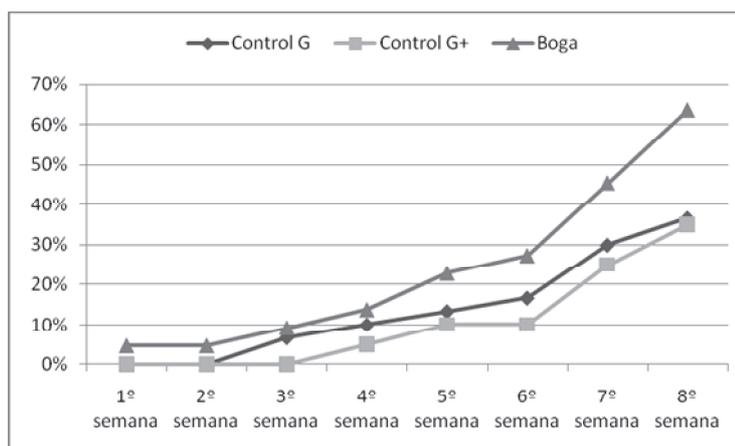


Fig. 3: Mortalidad a lo largo del ciclo de engorde grupal

Conclusiones

- Cuando la temperatura de cultivo supera los 20-21°C, la inclusión de un 60% de cangrejo *P. pelagicus* aumenta el crecimiento y la supervivencia en jaulas.
- La selección de sólo machos no parece generar un mayor crecimiento ni supervivencia que el cultivo con ambos sexos hasta los 2 meses.
- En general, la mortalidad se relaciona con la temperatura de cultivo, con la duración de la fase de agrupación de stock y con la longevidad de los ejemplares.
- Para experiencias de engorde individual, se recomienda no superar una densidad inicial de 20 kg/m³ y alojar los compartimentos en el fondo de la jaula.

Bibliografía

- Estefanell *et al.*, 2007. Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, 655-658.

- Estefanell *et al.*, 2009. Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura, resumen 349.
- García García *et al.*, 2009. Aquaculture Research, 40: 1202-1212.
- Rodríguez *et al.*, 2006. Aquaculture, 254: 293-300.
- Socorro *et al.*, 2005. Actas del X Congreso Nacional de Acuicultura, 428-429.

3.3.1.4. Evaluación de jaulas bentónicas en el engorde de pulpo común.

ICCM, C.A. de Canarias.

Introducción.

El presente experimento pretende evaluar un sistema de cultivo bentónico en jaulas sumergible, de tamaño y forma similar a las jaulas flotantes que han dado buenos resultados en el engorde de pulpo común (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006; García García *et al.*, 2009). De este modo se pretende evaluar un sistema de cultivo que a priori reproduce más fielmente las condiciones de vida de esta especie, tanto en condiciones de intensidad de luz, estabilidad del sustrato y temperatura.

Material y métodos.

Se utilizó una jaula de 2x2x1 m dividida en 2 subunidades de 2 m³, fabricada con un armazón de acero inoxidable y malla de PVC de 2.5x2.5 mm de luz de malla (Fig. 1). Dicha jaula fue situada a 27 m de profundidad bajo instalaciones de jaulas de engorde de peces (CANEXMAR, S. L.) y se introdujeron guaridas a modo de T de PVC de 160 mm de diámetro.

Se suministró una dieta a base de 60-40% de cangrejo *P. pelagicus* y boga de descarte *Boops boops* a saciedad (dosis diaria del 10-6% de la biomasa del tanque respectivamente). Alimentación diaria de lunes a sábado mediante buzo profesional de la empresa CANEXMAR S. L. La duración del experimento fue de 2 meses y las condiciones iniciales de cada tratamiento así como la temperatura de cultivo se pueden ver en la tabla I.

Resultados y discusión.

La gran demanda de comida por parte de los pulpos hizo que la tasa media de alimentación ascendiese al 13% para el cangrejo (sin caparazón ni patas marchadoras) y al 9% para la boga. Sólo se observó una baja en la subunidad 1, el resto de las bajas se corresponden a escapes y a la inesperada visita de pescadores furtivos que rompieron la jaula a pocos días del final del experimento.

En la subunidad 1 se registró un incremento de biomasa del 114% con una tasa de crecimiento diario de 44 g./día, superior a datos previos (Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006; García García *et al.*, 2009), pero elevada tasa de alimentación dio lugar a un índice de conversión del alimento muy elevado (8.0). En cualquier caso los resultados son prometedores, aunque es necesario asegurar la integridad de la jaula de modo que se eviten robos/escapes.

Tabla I: Parámetros experimentales y crecimiento.

	Subunidad 1	Subunidad 2
N inicial	14	7
Sex ratio macho:hembra	1:0	1:1
Peso inicial (g.)	1351±282	671±131
Densidad inicial (kg/m ³)	9.5	2.7
Biomasa inicial (g.)	18920	5370
N final	10	1
Peso final (g.)	4050±926	3380
Biomasa final (g.)	40500	-
IPD (g./día)	44.1±13.2	42.8
Incremento biomasa (%)	114%	-
IC	8.0	-
T (°C)	23-24°C	



Fig. 1: Jaula sumergible de 2x2x1 m.



Fig. 2: Fondeo de la jaula sumergible.

3.3.2. Efecto de la separación por tamaños y por sexos sobre el crecimiento y la supervivencia.

ESM-USC, C.A. de Galicia.

Resumen

El engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) se basa en la captura de individuos adultos en el medio natural, con un peso mínimo permitido por ley, seguido de su distribución en jaulas flotantes o suspendidas en bateas. Un ciclo de engorde típico comprende un periodo de 3 a 4 meses, al cabo del cual se pueden alcanzar pesos medios de alrededor de 2,5-3,0 kg. Con el fin de evaluar nuevas estrategias para optimizar el proceso de engorde del pulpo a escala industrial, se realizaron dos experimentos en jaulas de engorde suspendidas de una batea, en la ría de Vigo, que consistieron en: a) experimento 1 – engorde de pulpos con separación por tamaños. Se constituyó un grupo homogéneo (HOM), cuya diferencia en el peso inicial (Pi) de los individuos no sobrepasaba los 100 g, y un grupo heterogéneo (HET), que consistió de ejemplares cuya diferencia en el Pi de los individuos sobrepasaba los 500 g (que es lo habitual en el sistema de cultivo industrial); b) experimento 2 – engorde de pulpos clasificados por sexos: grupo MACHOS, constituido por ejemplares sólo machos con Pi de 953 ± 146 g; grupo HEMBRAS, formado por sólo hembras con Pi de 899 ± 135 g; y grupo MIXTO, formado por machos y hembras con Pi de 899 ± 137 g. Los pulpos se alimentaron a diario (excepto los domingos) con distintas especies de pescado (jurel, bacaladilla, caballa, boga) y mejillón, con una ración que varió entre el 3 y el 6% de la biomasa en jaula. En el primer experimento, la supervivencia apenas varió entre los grupos, siendo del 70,0% en el grupo HOM y del 68,7% en el grupo HET. El peso final (Pf) de los ejemplares en el grupo HET (2188 ± 574 g) fue superior al del grupo HOM (2091 ± 499 g), mientras que la biomasa final del grupo HOM fue mayor debido a la diferencia en la supervivencia. El engorde de pulpos obtenidos del medio natural y seleccionados para formar un grupo homogéneo, no supuso una clara ventaja frente a un ciclo de engorde típico, con individuos de peso heterogéneo. Las pequeñas diferencias observadas en cuanto a biomasa total alcanzada posiblemente no compensarían, económicamente, el esfuerzo en personal necesario para realizar la selección por tamaños muy ajustados. En el segundo experimento, la supervivencia de los grupos MACHOS y MIXTO (ambos con 86,7%) ha sido superior a la del grupo HEMBRAS (73,3%). El Pf de los individuos del grupo MACHOS (2261 ± 428 g) ha sido superior al Pf observado en los grupos HEMBRAS (2015 ± 428 g) y MIXTO (2125 ± 450 g), aunque el Pi de los pulpos del grupo MACHOS también había sido superior. Los resultados han demostrado que la mortalidad en el grupo MACHOS no ha sido diferente de la del grupo MIXTO. Dados los resultados dispares que se barajan por diversos autores en el engorde con separación de sexos, sería necesario el diseño de experimentos que traten de encontrar las causas que puedan explicar los diferentes comportamientos observados. De cara al futuro, sería interesante realizar nuevos experimentos de engorde con grupos de individuos separados por tamaños “a simple vista”, o sea, con rangos de peso más amplios (ej.: 250 g), estableciéndose periodos de engorde más cortos o más largos en función del Pi del grupo. Con estas medidas se podría ahorrar alimento y mejorar la gestión del cultivo, ya que el tiempo de engorde se acortaría en las jaulas con ejemplares más grandes y se prolongaría en aquellas con ejemplares más pequeños.

Introducción

El pulpo común (*Octopus vulgaris*) es una especie de gran valor comercial en los mercados de Asia y del sur de Europa. Los principales países del mundo con extracción pesquera son China, Japón, Marruecos, Tailandia, Corea, España, México, Senegal y Mauritania. Entre los países consumidores, Japón se sitúa a la cabeza de la lista, seguido por España e Italia (Globefish, 2005). A principios de los años 90, la creciente demanda del pulpo en países asiáticos y mediterráneos y la ligera disminución de las capturas a nivel mundial (Globefish, 2005), conllevaron un aumento de los precios de compra de este cefalópodo. El precio de venta del pulpo varía en función de su tamaño y del país donde se comercializa, pero suele estar comprendido entre los 3 y los 8 euros kg⁻¹ (Globefish, 2005). El gran interés por esta especie en los países del sur de Europa con fuerte tradición en su consumo, ha generado una importante cantidad de trabajos relacionados con el tema del engorde y cultivo del pulpo, con el fin de averiguar su potencial para la diversificación de la acuicultura. Aunque la mayor parte de los trabajos tengan su origen en España (Iglesias *et al.*, 1997, 1999, 2000, 2003, 2007b; Rama-Villar *et al.*, 1997; Luaces-Canosa y Rey-Méndez, 1999; Tuñón *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2003; Aguado y García-García, 2002; García-García y Aguado, 2002; Oltra *et al.*, 2005; Socorro *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006), también en Portugal (Gonçalves, 1993; Sendão *et al.*, 1998; Vaz-Pires *et al.*, 2004), en Italia (Cagnetta, 1999; Cagnetta y Sublimi, 2000) y en Grecia (Miliou *et al.*, 2005, 2006) se han realizado experimentos de engorde. De los trabajos de engorde de pulpo realizados por los diferentes grupos de investigación en Europa, se destacan las siguientes conclusiones generales: 1) las altas tasas de crecimiento de la especie; 2) la aceptación de alimentos de bajo valor comercial; 3) la elevada tasa de ingestión; 4) la fácil adaptación del pulpo a la cautividad; y 5) las tasas de crecimiento más elevadas a temperaturas comprendidas entre los 18 y los 22 °C. Entre los problemas identificados por varios autores se citan: 1) tasas de mortalidad muy variables, que en ciclos cortos de 3 meses difícilmente bajan del 15%, pudiendo alcanzar hasta un 50% a medida que se aumenta el tiempo de cultivo; 2) la dificultad de consecución de pulpos pequeños, tanto por la reticencia de los pescadores a proporcionar ejemplares vivos por miedo a que el aumento de producción pueda hacer descender los precios, como por la falta de ejemplares en el medio natural en algunas épocas; 3) la poca resistencia del pulpo a variaciones de salinidad, lo que limita el proceso de engorde de pulpo a ciertas zonas de la costa; y 4) la elevada cantidad de materia orgánica que genera la utilización de alimentos naturales, que conllevaría en el futuro problemas de impacto ambiental que habría que solucionar y/o legislar.

Actualmente, el engorde de pulpo se basa en la captura de individuos sub-adultos del medio natural, con el peso mínimo permitido por ley (entre 750 y 1000 g, dependiendo de épocas o zonas de extracción), seguida de su distribución en jaulas flotantes o suspendidas en bateas. Un ciclo de engorde típico comprende un periodo de 3 a 4 meses, a lo largo del cual los pulpos son alimentados a diario (excepto los domingos) con combinaciones variables de pescado, crustáceos y mejillón, según la empresa que lo desarrolla, alcanzándose al final del proceso pesos medios de alrededor de 3 kg, altamente cotizados en el mercado. Los alimentos más comúnmente utilizados por varios autores en trabajos experimentales, o por las empresas dedicadas al proceso de engorde del pulpo, fueron distintos tipos de pescado, como el lirio (*Micromesistius poutassou*), la caballa (*Scomber scombrus*), la boga (*Boops boops*), la sardina (*Sardina pilchardus*), el jurel (*Trachurus trachurus*), el cangrejo (*Carcinus maenas*), el patexo (*Polybius henslowii*) y el mejillón (*Mytilus* sp). De todos ellos, los crustáceos suelen dar mejores resultados de crecimiento (Sendão *et al.*, 1998; Cagnetta y Sublimi, 2000; García-García y Cerezo, 2006).

En un estudio comparativo de las tasas de crecimiento de pulpos alimentados con monodietas de cangrejo o de pescado, o con mezclas variables de los dos alimentos, García-García y Cerezo (2006) concluyeron que la mejor relación “coste del alimento/biomasa obtenida” se conseguía con la mezcla de un 25% cangrejo y 75% de pescado. La formulación de dietas artificiales para pulpos que puedan sustituir el alimento fresco es objeto de estudios intensos hoy día, en un intento de abaratar los costes de engorde y facilitar la tarea de alimentación de los pulpos. Sin embargo, los resultados alcanzados hasta la fecha no son muy alentadores, debido al escaso crecimiento de los pulpos con dietas húmedas observado por varios autores (Cerezo *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2008).

El esquema general de explotación de una empresa en funcionamiento consiste en jaulas de sección cuadrada o rectangular con capacidad para albergar de 100 a 200 pulpos (Figura 1).

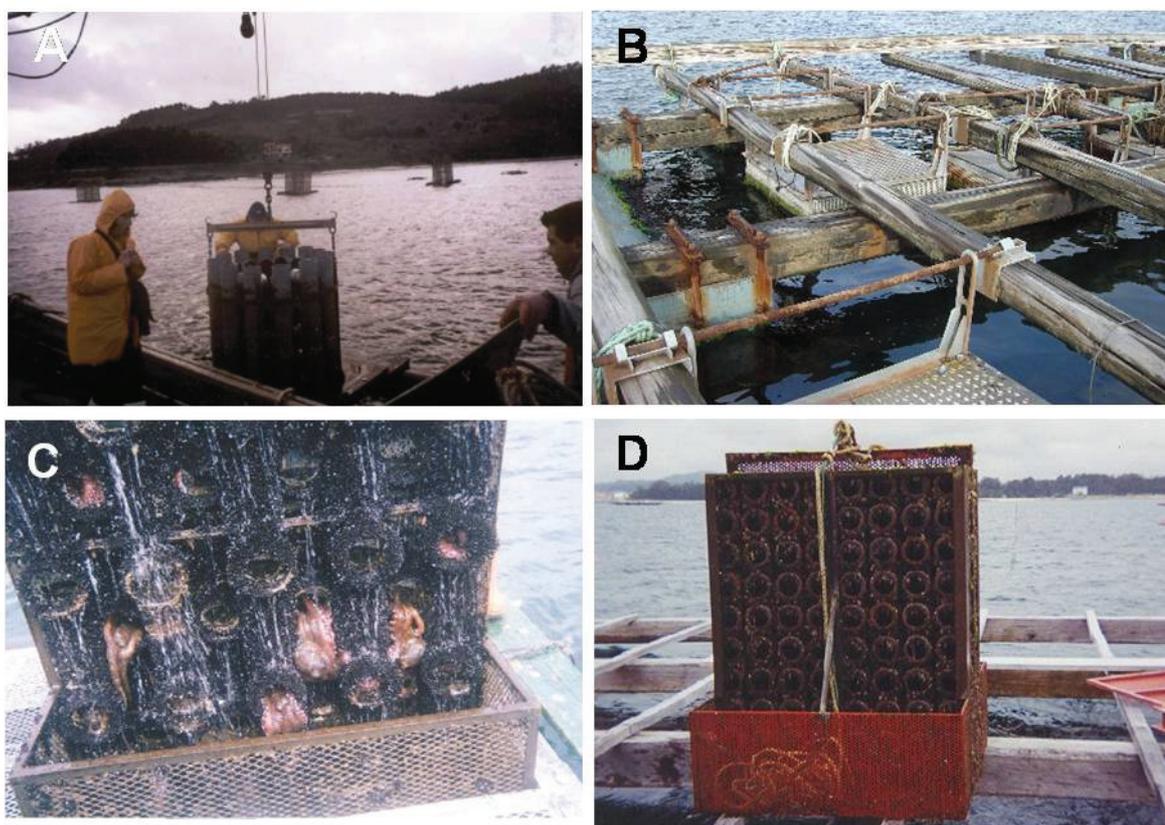


Figura 1. – Sistemas de engorde de pulpo. (A) Jaulas flotantes de sección circular. (B) Jaulas suspendidas de batea de sección rectangular o cuadrada. (C) Levantamiento de una jaula de engorde con refugios para pulpos. (D) Sistema de jaula con malla de hierro perforada y nasas de plástico negro con lastre.

Estas jaulas pueden ser unidades individuales con sistema de flotación propio o acoplarse en una plataforma flotante común. El proceso de engorde, al tener una duración de 3 a 4 meses, con el objetivo de alcanzar el tamaño comercial óptimo de alrededor de 3,0 kg, permitiría que se realizasen tres ciclos de engorde al año, por lo que una empresa con 25 jaulas podría engordar unos 9.000-12.000 pulpos al año. De los estudios económicos sobre la explotación del pulpo,

García-García *et al.* (2004) refirieron que una explotación empresarial de pulpo tendría que tener un mínimo de 43 jaulas y una producción anual estimada en 38 t para ser rentable, aunque estos valores pueden variar considerablemente teniendo en cuenta los precios de adquisición de los ejemplares, del alimento y de venta del pulpo en lonja. En Galicia, la producción total en 1998 fue de 72 t, frente a las 500 t anuales de capacidad con la que contaban las instalaciones con permiso de explotación. En los años siguientes la producción bajó considerablemente con ≈ 30 t en 2000 y ≈ 15 t en 2001, mientras que en el 2002 y 2003 hubo ausencia de producción a causa del accidente del Prestige. Actualmente la producción media anual ronda las 10-20 t. Sin embargo, esta actividad no puede consolidarse en el mercado debido a la dificultad en la obtención de juveniles.

Con el fin de estudiar medidas que pudiesen mejorar los procesos habituales de engorde, se han realizado algunos experimentos para evaluar los efectos que pueden tener la separación de pulpos por tamaños muy uniformes (diferencias en el peso inicial de los ejemplares no superiores a 100 g), y la separación de pulpos por sexos, en la época del verano (época alta del engorde).

Material y métodos

Engorde de pulpos con separación por tamaños: grupo muy uniforme (homogéneo) vs grupo heterogéneo

Las pruebas de crecimiento se llevaron a cabo en la ría de Vigo, Galicia, en una batea semejante a las utilizadas para cultivar mejillón, pero modificada para que se pudieran colgar jaulas de engorde. Las jaulas de engorde, de hierro galvanizado y con las dimensiones de 1,5 x 1,5 x 3 m de altura, poseen en su interior 8 columnas de tubos "T" de PVC encajados, cada una con 7 refugios, colocadas en lados opuestos dentro de la jaula, que sirven de cobijo a los pulpos.

Los pulpos utilizados en este experimento han sido capturados con nasas entre la zona de las islas Cíes y Ons, los días 5 a 8 de mayo de 2008. Una vez llegados a las jaulas de engorde, los pulpos fueron pesados individualmente en una balanza Kern de precisión ± 1 g, e introducidos en dos jaulas, estableciéndose dos grupos: un grupo homogéneo (HOM) cuya diferencia de peso entre los individuos no sobrepasaba los 100 g (pulpos con ≥ 800 y ≤ 900 g), y otro heterogéneo (HET) que consistió de una jaula típica con la que se inicia un ciclo de engorde (o sea, con individuos cuya diferencia de peso puede sobrepasar los 500 g).

El alimento fue distribuido a diario (excepto los domingos) con distintas especies de pescado (jurel, bacaladilla, caballa, boga) y mejillón, con una ración que varió entre el 3% y el 6% de la biomasa en jaula. Una vez a la semana se realizaron operaciones de limpieza de las jaulas, tanto en la parte exterior de las paredes como dentro de la misma, recogiendo los restos de comida y los ejemplares muertos. Al final del periodo de engorde, se han contabilizado y pesado nuevamente los pulpos de forma individual, analizándose la supervivencia y el crecimiento de los grupos. Se ha seguido igualmente el proceso de engorde de otras tres jaulas "típicas" en dos épocas del año distintas, con el fin de evaluar la supervivencia y el incremento del peso de los pulpos en diferentes condiciones anuales. En la tabla III se pueden ver las características iniciales de cada grupo estudiado.

Engorde de pulpos mediante separación por sexos

Este trabajo se ha llevado a cabo igualmente en la ría de Vigo en las mismas condiciones descritas en el apartado anterior. Los pulpos utilizados en este experimento han sido capturados con nasas entre la zona de las islas Cíes y Ons, los días 12 a 16 de agosto de 2008. Los ejemplares han sido pesados individualmente en una balanza Kern de precisión ± 1 g, estableciéndose los siguientes grupos: grupo 1 (MACHOS) – constituido por ejemplares macho, los cuales se han identificado por la presencia de las grandes ventosas o por el tercer brazo derecho hectocotilizado; grupo 2 (HEMBRAS) – constituido únicamente por hembras; grupo MIXTO – constituido por machos y hembras en proporción aleatoria, tal y como se suele hacer en un ciclo de engorde típico. En la tabla III se pueden observar las características de los grupos iniciales.

Resultados

Engorde de pulpos mediante separación por tamaños

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla III. La supervivencia apenas varió entre los grupos, siendo del 70,0% en el grupo homogéneo y del 68,7% en el grupo heterogéneo. El peso medio final de los pulpos en el grupo heterogéneo (2188 ± 574 g) fue superior al del grupo homogéneo (2091 ± 499 g), mientras que la biomasa final del grupo homogéneo fue mayor, debido a la diferencia en la supervivencia.

La supervivencia de los pulpos de otras jaulas heterogéneas que se habían seguido en diferentes épocas del año fue similar a la observada en las jaulas del presente estudio (Tabla III). En cuanto a la biomasa de estos grupos heterogéneos, se puede verificar que ésta varió considerablemente con la época del año en la que se realizó el engorde. En los meses de la época baja, aunque la supervivencia fue prácticamente igual a la de la época alta, el crecimiento de los pulpos fue bastante inferior (grupo heterogéneo 1), aunque el tiempo de engorde fuera superior (Tabla III). En la época de engorde alta (grupos heterogéneos 2 y 3), los pesos medios finales fueron similares o incluso superiores, debido al mayor número de días de engorde.

En la figura 2 se puede observar la frecuencia de los pesos finales de los ejemplares. En el grupo homogéneo se verificó una distribución normal bien demarcada en tan sólo tres meses de engorde. En este grupo se observaron once pulpos con peso inferior a 1,5 kg, registrándose únicamente tres individuos con peso superior a 3 kg. A su vez, el grupo heterogéneo tuvo una distribución de pesos asimétrica, observándose trece pulpos con peso inferior a 1,5 kg y siete con peso superior a 3 kg (Figura 2).

Tabla III. Resultados del engorde de pulpos con separación por tamaños. Grupo homogéneo: constituido por ejemplares con un peso inicial de entre 800-900 g; y grupo heterogéneo: ejemplares con diferencias en el peso inicial superiores a 500 g. Se presentan igualmente los resultados obtenidos en otras jaulas heterogéneas, seguidas en otras épocas del año, para comparación.

	Heterogéneo 1	Heterogéneo 2	Heterogéneo 3	Homogéneo	Heterogéneo
Nº pulpos inicial	110	112	108	120	115
Nº pulpos final	70	74	72	84	79
Supervivencia	63,6%	66,1%	66,7%	70,0%	68,7%
Peso inicial (g)	786 ± 97	895 ± 115	892 ± 118	853 ± 29	894 ± 160
Peso final (g)	1801 ± 456	2369 ± 733	2039 ± 621	2091 ± 499	2188 ± 574
Biomasa inicial	86,5	100,2	93,7	102,3	102,8
Biomasa final (kg)	126,1	175,3	146,8	175,7	167,3
Tiempo de engorde	107 días 03/12/2007 – 07/04/2008	107 días 14/04/2008 – 29/07/2008	97 días 21/04/2008 – 29/07/2008	85 días (7/05/2008 – 30/07/2008)	

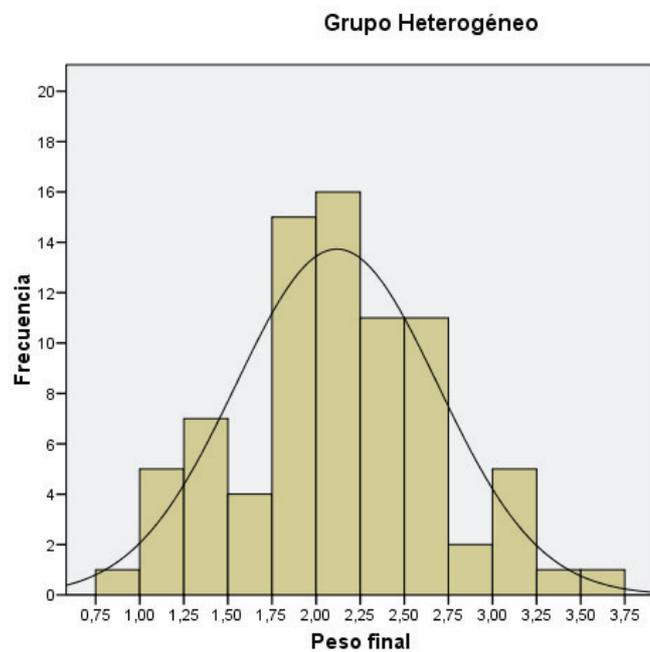
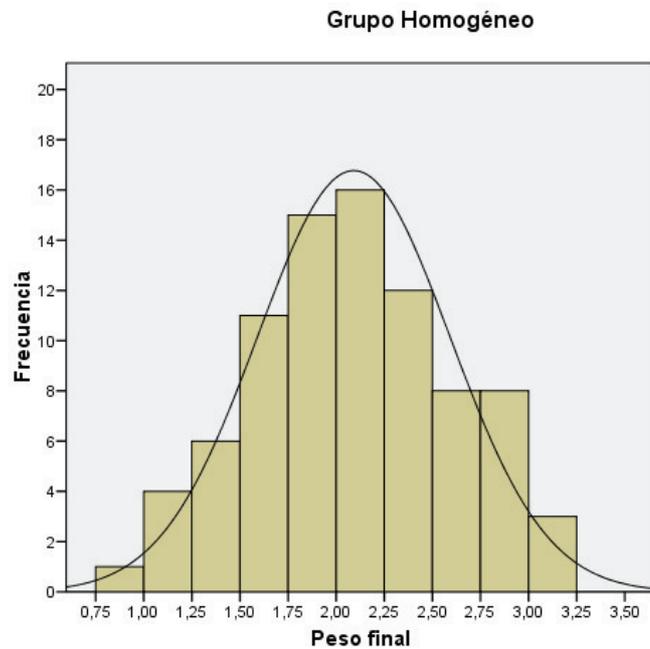


Figura 2 – Frecuencia de los pesos finales de los pulpos en los grupos homogéneo (arriba) y heterogéneo (abajo).

Engorde de pulpos mediante separación por sexos

Los resultados del estudio del engorde con clasificación por sexos se presentan en la tabla VI. La supervivencia de los grupos MACHOS y MIXTO (ambos con 86,7%) fue superior a la del grupo HEMBRAS (73,3%). Sin embargo, comparando la supervivencia de esta jaula con la supervivencia de la otra jaula mixta que se siguió (Mixta 2 – 71,9%), se puede observar que ambas presentan valores similares (Tabla IV).

Tabla IV. Resultados de supervivencia y crecimiento de los pulpos en los grupos separados por sexos (Machos y Hembras) y en los grupos control (Mixtos). Se presentan igualmente los resultados obtenidos en otra jaula con pulpos mixta que ha sido seguida (Mixto 2).

	MIXTO	MACHOS	HEMBRAS	Mixto 2
Nº pulpos inicial	120	120	120	121
Nº pulpos final	104	104	88	87
Supervivencia	86,7%	86,7%	73,3%	71,9%
Peso medio inicial	899 ± 137 ^a	953 ± 146 ^b	899 ± 135 ^a	921 ± 138
Peso medio final	2125 ± 450 ^a	2261 ± 428 ^b	2015 ± 428 ^a	2328 ± 456
Biomasa inicial	107,8 kg	114,3 kg	107,9 kg	102,3 kg
Biomasa final	221,0 kg	235,2 kg	177,4 kg	175,7 kg
Días de engorde	103 días	95 días	103 días	103 días
	15/08/2008 - 25/11/2008	15/08/2008 - 18/11/2008	15/08/2008 - 25/11/2008	08/08/2008 - 18/11/2008

Medias ± desv. est. (Teste no paramétrico de Kruskal Wallis para comparación de los tres grupos, seguido de Mann-Whitney para identificación de los grupos con diferencia significativa $P < 0,05$).

El peso final de los individuos del grupo MACHOS fue superior al de los pulpos de los grupos HEMBRAS y MIXTO, aunque el peso inicial de ejemplares también había sido superior. Por ello se mantuvieron los individuos de las jaulas HEMBRAS y MIXTA una semana más, con el fin de compensar la desigualdad de los pesos iniciales. Entre el grupo HEMBRAS y MIXTO no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, a pesar del mayor peso medio del grupo MIXTO. Comparando el crecimiento del grupo MACHOS con el Mixto 2, cuyos pesos iniciales no fueron estadísticamente diferentes ($P=0,083$, Mann-Whitney), se pudo verificar que tampoco existieron diferencias significativas en el peso final de los ejemplares ($P=0,349$, Mann-Whitney). En la figura 3 se presentan las frecuencias de los pesos finales de los grupos MACHOS, HEMBRAS y MIXTO.

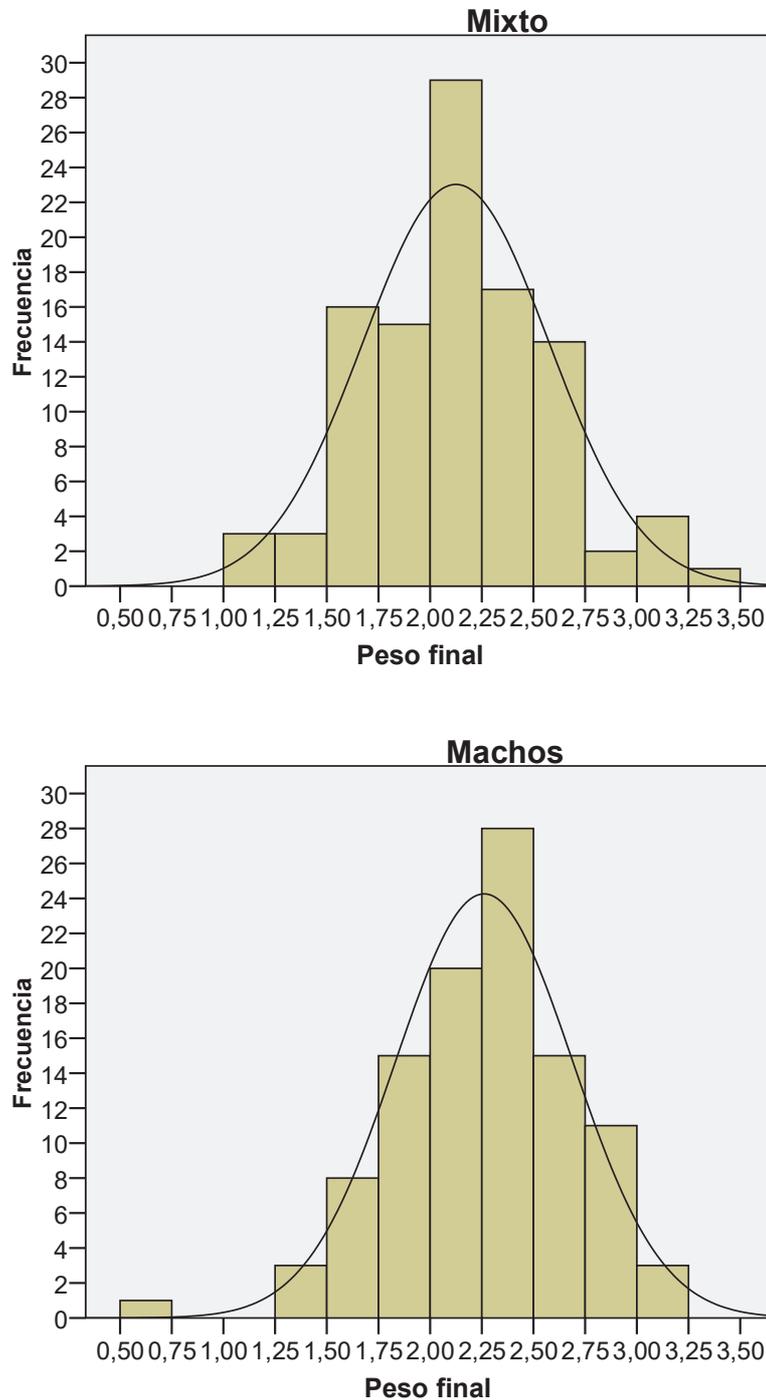


Figura 3. - Frecuencia de los pesos finales de los pulpos en los grupos MIXTO (pulpos machos y hembras en proporción aleatoria), MACHOS (sólo machos) y HEMBRAS (sólo hembras). La figura continua en la página siguiente.

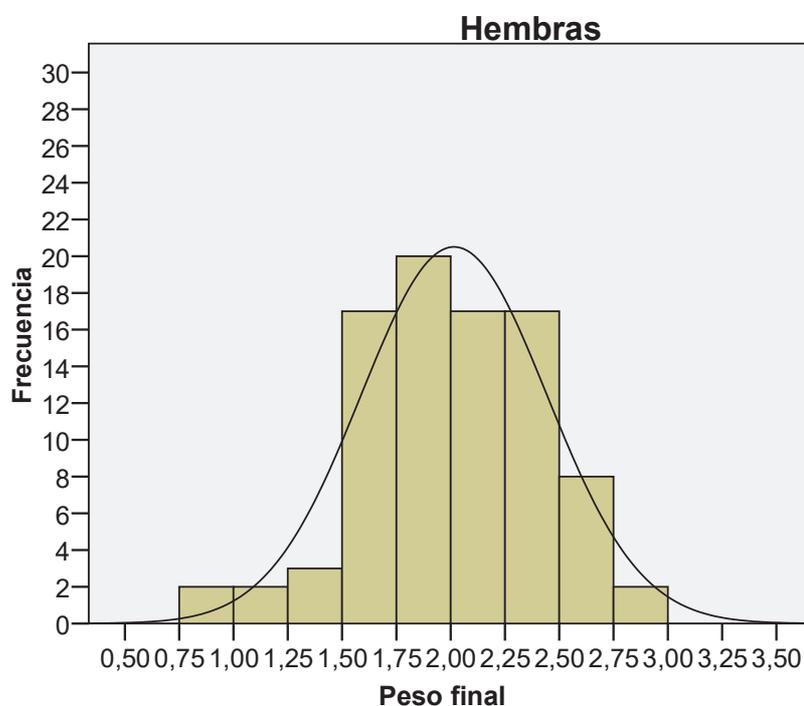


Figura 3. Continuación.

Observando la frecuencia de los pesos finales de los pulpos en los diferentes grupos, se puede constatar que los grupos MIXTO y MACHOS tuvieron más individuos con peso superior a 2 kg que el grupo HEMBRAS. En el grupo HEMBRAS no se encontraron ejemplares de más de 3 kg, mientras que en los grupos MIXTO y MACHOS sí se observaron algunos con más de 3 kg de peso final.

Discusión

Los resultados de crecimiento y supervivencia obtenidos en este estudio se encontraron dentro de los valores normales descritos por otros autores en experimentos de engorde (Tuñón *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003; Rey-Méndez *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2006; Iglesias *et al.*, 2007b), aunque en algunos casos los pesos medios finales pudieron ser inferiores. La supervivencia registrada en el experimento de engorde con separación por tamaños (64-70%) fue, en general, inferior a los valores encontrados en el experimento con clasificación de sexos (72-87%). Sin embargo, los valores observados en los dos experimentos estaban dentro del rango descrito por otros autores (45-90%) en condiciones de engorde similares (Tuñón *et al.*, 2000, 2001, 2002; Rodríguez *et al.*, 2006; Iglesias *et al.*, 2007b).

En el experimento con separación de tamaños, una de las causas que pudo influenciar en la diferencia de los pesos medios finales fue la media de los pesos iniciales, que fue superior en el grupo heterogéneo. Esta diferencia se debió a la introducción de varios ejemplares con peso superior a 1 kg en el grupo heterogéneo. Sin embargo, el objetivo del trabajo era comparar un ciclo de engorde típico frente a un grupo de pulpos de peso homogéneo, por lo que nos limitamos a

seleccionar individuos para formar este último grupo, permitiendo que la formación del grupo heterogéneo fuera totalmente aleatoria, tal y como se hace en un proceso habitual. Los resultados del grupo homogéneo han demostrado que los pulpos han crecido de acuerdo con lo que suele ocurrir en la naturaleza, es decir, algunos ejemplares han crecido más de lo normal (“cabezas”), mientras que otros apenas se han desarrollado, lo que correspondería a las “colas”. Otra posible explicación es que se haya establecido algún tipo de jerarquía dentro del grupo, de tal forma que algunos pulpos se han desarrollado más debido a diversos factores de comportamiento, como previamente describieron Tuñón *et al.* (1999, 2003).

En el experimento con clasificación por sexos, la mortalidad del grupo MACHOS no fue diferente de la del grupo MIXTO. La mayor mortalidad de pulpos en el grupo HEMBRAS podría estar relacionada con la ocurrencia de puestas, ya que al final del período de incubación de los huevos las hembras suelen morir al cabo de pocos días. Sin embargo, en este estudio no se encontró un gran número de puestas (tan sólo cuatro), por lo que en este caso se podría descartar este factor. Los resultados de supervivencia encontrados en este trabajo en los grupos MACHOS y HEMBRAS son similares a los descritos por otros autores (Chapela *et al.*, 2006; Iglesias *et al.*, 2007b), pero contrarios a otros estudios anteriores (Tuñón *et al.*, 2000, 2002), por lo sería necesario profundizar este tema y encontrar las causas que expliquen los diferentes resultados encontrados.

Aunque se observó una clara tendencia de mayor crecimiento de los individuos del grupo MACHOS frente a los del grupo HEMBRAS, estas diferencias no fueron claras en comparación con los grupos MIXTOS. Estos resultados corroboran la evidencia de que los machos crecen más que las hembras, ya que éstas a partir de determinado peso empiezan a desarrollar y a madurar el ovario para realizar la puesta. Esta inversión de energía para el desarrollo de la gónada se traduce en un menor crecimiento somático, problema que no afecta a los machos. Teniendo en cuenta que no se encontraron grandes diferencias en la supervivencia entre los grupos clasificados por sexos y en los mixtos, esta separación no ofrece una ventaja clara a la hora de engordar pulpos.

En experimentos previos de engorde de pulpo sin clasificación por sexos, entre los meses de abril y julio, en la comunidad autónoma de Asturias, Rodríguez *et al.* (2006) describieron pesos medios finales de $1694 \pm 461,3$ g y $1790 \pm 604,5$ g al cabo de 3 meses de engorde, e iniciando la etapa con ejemplares de cerca de 1 kg, siendo estos pesos inferiores a los encontrados en el presente estudio. Los autores encontraron tasas de supervivencia del 59 al 64%. Sin embargo, en etapas de engorde realizadas entre los meses de agosto y octubre, estos autores encontraron pesos medios finales de $3739 \pm 889,5$ g y $3982 \pm 818,7$ g, con supervivencias de alrededor del 82%.

En trabajos con clasificación por sexos realizados por Iglesias *et al.* (2007b) en la misma batea del presente estudio, en la Ría de Vigo, en invierno, estos autores describieron pesos medios finales de 2316 ± 596 g en el grupo de los machos, y de 2600 ± 545 g en el grupo de las hembras (sin que estas diferencias fuesen estadísticamente significativas), al cabo de 4 meses de engorde, y tasas de supervivencia del 82 al 85%. En otros estudios llevados a cabo también en la Ría de Vigo, Chapela *et al.* (2006) describieron igualmente un ligero mejor crecimiento de las hembras en la época del invierno, aunque en este caso los autores habían iniciado el engorde con diferencias en el peso medio inicial de los grupos (0,81 kg en las hembras frente a 0,79 kg en los machos). Sin embargo, en los meses de verano, estos autores han observado mejores tasas de crecimiento en los machos que en las hembras, y una mayor mortalidad de las hembras (24%) frente a los machos (14%), que pudo ser explicada por el gran número de puestas encontradas.

Comparando la rentabilidad del engorde entre la época alta (verano) y baja (invierno), Iglesias *et al.* (2007b) observaron que aunque los pesos medios finales en verano (3376 ± 873 g) fuesen claramente superiores a los obtenidos en invierno (1862 ± 328 g), la biomasa final alcanzada apenas variaba entre las dos etapas, a raíz de la gran diferencia en la supervivencia (en torno a un 75% en invierno y a un 50% en verano). Los pesos medios finales obtenidos en este trabajo en los grupos separados por sexos o mixtos, fueron más bajos que los descritos por Iglesias *et al.* (2007b) en grupos mixtos engordados en verano. Sin embargo, debido a la mayor tasa de supervivencia de los pulpos en este estudio, la biomasa total ganada fue superior a la observada por aquellos autores. Las diferencias en los pesos medios finales también se podrían explicar por el tiempo de engorde más reducido en el presente trabajo (95-103 días), en comparación con el tiempo de engorde realizado por aquellos autores (4 meses). La realización de ciclos de engorde más cortos en los meses de verano había sido ya sugerida por Iglesias *et al.* (2007b), con el fin de abaratar los costes de producción y reducir la mortalidad de los individuos, que a menudo se incrementa en el último mes de engorde. Tal y como se ha observado en el estudio, aquellos autores no encontraron beneficios claros en la clasificación de sexos a la hora de mejorar la etapa de engorde del pulpo.

De cara al futuro, sería interesante realizar nuevos experimentos de engorde con grupos de individuos separados por tamaños, pero con rangos de peso más amplios (ej.: 250 g) que se puedan separar “a simple vista”, estableciéndose períodos de engorde más cortos o más largos en función del peso inicial del grupo. Con estas medidas se podría ahorrar en la alimentación y mejorar la gestión del cultivo, ya que el tiempo de engorde se acortaría en las jaulas con ejemplares más grandes y se prolongaría en aquellas con ejemplares más pequeños, evitando además la elevada dispersión en los pesos finales de los pulpos, tal y como observado en este trabajo. Una vez resuelto el problema del cultivo larvario y disponiendo de juveniles con la misma edad y de peso similar, sería necesario estudiar el desarrollo de los individuos y establecer comparaciones con los resultados observados en el presente estudio.

Estrategias para mejorar el engorde de pulpo en jaulas industriales

De los trabajos de engorde de pulpo realizados en los años anteriores (2007-2008), en los cuales se analizaron los efectos de la separación por tamaños y por sexos, se concluyó que:

- El engorde de pulpos obtenidos del medio natural y seleccionados para formar un grupo de individuos con peso medio muy similar (grupo homogéneo, cuyas diferencias de peso entre los individuos no superaban los 100 g), no supuso una clara ventaja frente a un ciclo de engorde típico con individuos de peso medio heterogéneo (pulpos cuya diferencia de peso entre los individuos podía ser de hasta 500 g). La ligera mejora en la supervivencia del grupo homogéneo, en comparación con el grupo heterogéneo, y las pequeñas diferencias observadas en cuanto a biomasa total alcanzada, posiblemente no compensarían económicamente el trabajo necesario para realizar la selección de los pulpos por tamaños.
- El engorde de pulpos con separación de sexos en la época alta de engorde (verano), tampoco originó diferencias claras de crecimiento y supervivencia frente a grupos de engorde típicos. La mortalidad en el grupo constituido sólo por machos no fue diferente de los valores observados en los grupos mixtos o de sólo hembras. Dados los resultados dispares que se

barajan por diversos autores en el engorde con separación de sexos, sería necesario encontrar las causas que puedan explicar los diferentes comportamientos observados.

Debido a que las ventajas en realizar el engorde de pulpos separados por tamaños muy ajustados, o con separación por sexos, no justificarían el trabajo necesario a mayores para poner en marcha esa metodología de engorde, se optó por estudiar un modelo de engorde que permita gestionar las jaulas de forma más eficaz. Este modelo consiste en hacer una separación de los ejemplares para engorde a simple vista, creándose tres grupos: pulpos pequeños (≤ 800 g), pulpos medianos (800-1000 g) y grandes (> 1000 g), que permitan reducir el tiempo de engorde de algunas de las jaulas, y prolongar un poco más el de los pulpos pequeños. Se evitaría además, la introducción de ejemplares muy grandes que convivan con otros más pequeños en la misma jaula, lo que siempre origina diferencias grandes de acceso al alimento.

En general, los pulpos se van metiendo en las jaulas de engorde (1,5 x 1,5 x 3 m) a medida que los marineros los van trayendo del mar. Las jaulas se van llenando una por una, hasta meter alrededor de 120 pulpos por jaula. Los pulpos introducidos suelen tener una distribución de pesos como se indica en la figura 1, es decir, con ejemplares que pueden alcanzar 1,4 kg, mezclados con individuos que no sobrepasan los 800 g.

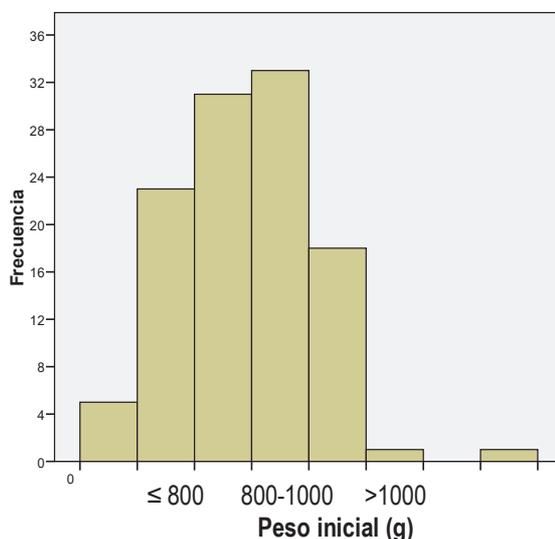


Figura 4. Frecuencia de los pesos iniciales de pulpos para engorde en un ciclo típico.

Estas diferencias de peso inicial generan desigualdades en la capacidad de competir por el alimento, ya que los pulpos más grandes se superponen a los más pequeños. En el modelo de engorde que proponemos, se crearían tres grupos de pulpos que se podrían separar por tamaños prácticamente a simple vista. Estas tres clases de grupo serían: pequeños (peso inicial ≤ 800), medianos (>800 y < 1000 g) y grandes (> 1000 g). La recolección de datos de los experimentos de engorde realizados anteriormente nos ha permitido observar la distribución de los pesos iniciales de

más de 800 pulpos. Estos pesos iniciales se ajustan a una determinada pauta si se dividen en los rangos mencionados arriba, y que permitirían que se llenasen dos jaulas de pulpos de tamaño mediano, una de pulpos pequeños y una de pulpos grandes por cada aproximadamente 500 pulpos que son llevados a la batea (Figura 5).

Esta distribución se podría realizar a simple vista, asignando en la batea de engorde, jaulas destinadas a introducir los ejemplares más pequeños, los medianos y los grandes. Las jaulas podrían así ser gestionadas de forma más rentable, ya que el tiempo de engorde de algunas de ellas sería más corto y el de otras más largo, en función del tamaño inicial. Los pulpos grandes se quitarían para venta en un plazo de 6-8 semanas, los medianos al cabo de 8-12 semanas, y los pequeños en 12-16 semanas. El tiempo máximo de engorde sería similar al que se hace actualmente con jaulas típicas. Otra de las ventajas de este modelo es que los pesos de ejemplares quitados para venta serían más uniformes, ya que los pesos iniciales eran igualmente más parecidos.

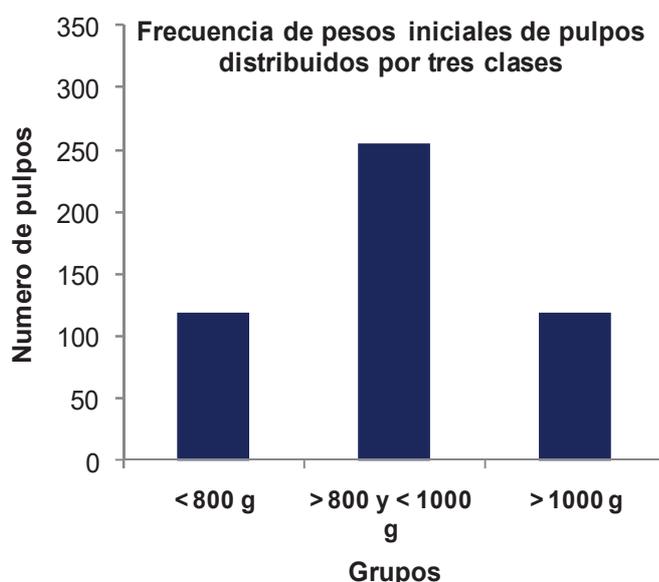


Figura 5. Frecuencia de los pesos iniciales de pulpos que se podrían obtener creando tres clases de pesos.

Para evaluar el efecto de este modelo, se hizo un experimento entre octubre del 2008 y enero de 2009. En tiempo de engorde en el año 2009 tuvo que ser acortado por motivos climatológicos, ya que las persistentes y continuas lluvias registradas en enero estaban a originar bajadas en la salinidad del agua de la ría. Para no perder la producción de ese ciclo de engorde se quitaron todos los pulpos en la primera semana de enero de 2009. A continuación se describe el experimento y los resultados obtenidos.

Material y métodos

Este experimento se llevó a cabo en colaboración con la asociación Samertolameu S.C.L. (Distrito de Cangas, Polígono C, Cuadrícula 87). Los pulpos fueron distribuidos por las jaulas de engorde a lo largo del período comprendido entre el día 14-10-2008 y el 23-10-2008. Las jaulas de hierro galvanizado tienen las dimensiones de 1.5 m x 1.5 m x 3 m de altura y en su interior se disponen 8 columnas formadas por 7 tubos “T” en PVC encajados en las dos caras opuestas de la jaula, que sirven de cobijo a los pulpos. Los pulpos utilizados en este experimento fueron capturados con nasas en la zona de las islas Cíes y Ons. Una vez llegados a las jaulas de engorde, fueron observados a simple vista para evaluar su peso, pero también se registró su peso individual con la ayuda de una balanza Kern de precisión ± 1 g. Se asignaron 4 jaulas de engorde de la batea para las tres clases de pulpos.

- Pulpos pequeños (≤ 800): una jaula de engorde (nº 2.11)
- Pulpos medianos (> 800 y < 1000 g): dos jaulas de engorde (nº 3.12 y 4.13)
- Pulpos grandes (>1000 g): una jaula de engorde (nº 4.10)

Los pesos iniciales de los grupos de pulpos (Figura 6) fueron los siguientes:

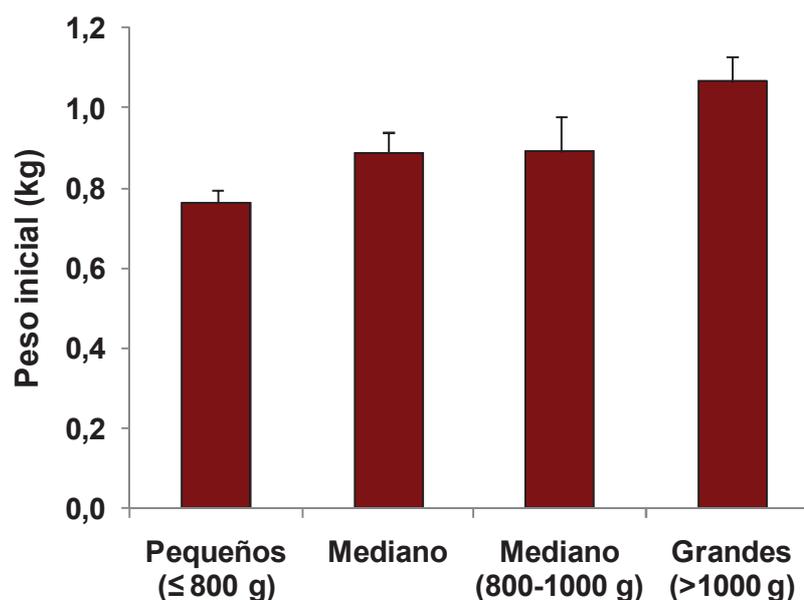


Figura 6. Pesos iniciales de los grupos de pulpos formados para el experimento de engorde.

El alimento se distribuyó a diario (excepto los domingos) con distintas especies de pescado (jurel, bacaladilla, caballa, boga) y mejillón, con una ración que varió entre el 3% y el 6% de la biomasa en jaula. Una vez a la semana se realizaron operaciones de limpieza de las jaulas, tanto en la parte exterior de las paredes como dentro de la jaula, recogiendo los restos de comida y los ejemplares muertos. Como mencionado anteriormente, por motivos climatológicos se tuvo que suspender el experimento 1 mes antes de lo previsto, ya que a causa de las lluvias continuadas la salinidad de la ría empezó a bajar y se quitaron todos los pulpos de inmediato para evitar pérdidas económicas abultadas. Aun así, se han contabilizado y pesado los pulpos de forma individual, analizándose la supervivencia y el crecimiento de los grupos.

Resultados

La supervivencia de los pulpos fue superior a 80% en todos los grupos (Figura 7), alcanzándose un valor máximo del 95% en una de las jaulas de ejemplares medianos. Debido a que el tiempo de engorde fue de alrededor de 2 meses y medio y en invierno (época de bajo crecimiento), los pesos medios alcanzados en los grupos no fueron muy altos (Figura 7). El crecimiento de los ejemplares siguió la pauta de los pesos iniciales, siendo el peso medio del grupo de pulpos grandes el más alto de todos.

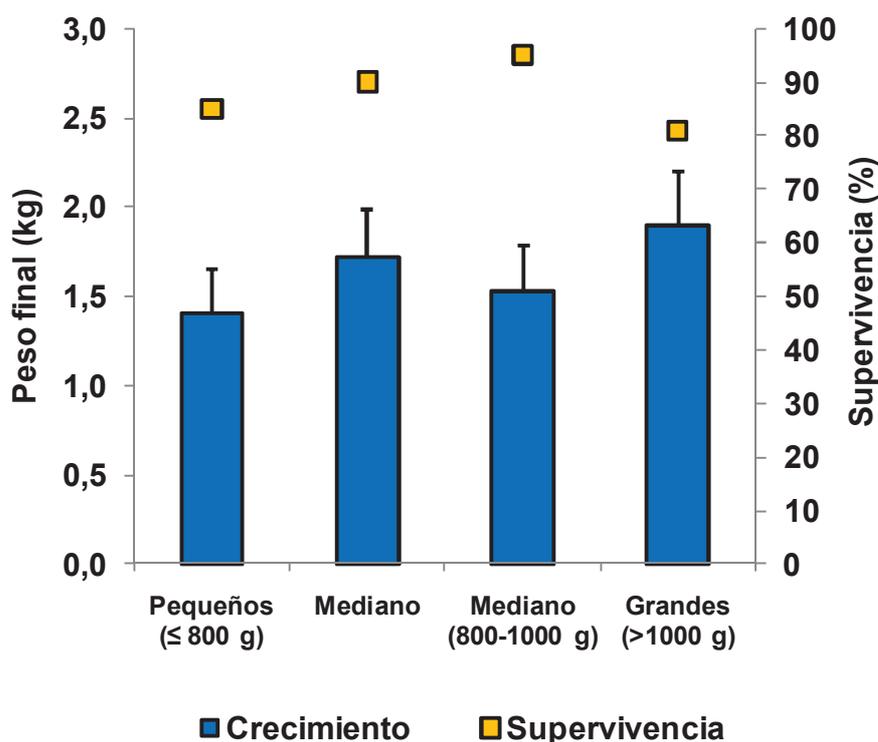


Figura 7. Pesos medios finales de los pulpos separados en tres grupos de engorde.

Se observó un menor crecimiento de una de las jaulas de pulpos medianos, que se podría justificar por su peor localización respecto a la llegada de las corrientes o por descuido del encargado en alimentar los pulpos, que a veces no repartía el alimento de forma totalmente equitativa. El grupo de pulpos pequeños alcanzó un peso medio de 1411 ± 245 g, los grupos de medianos alcanzaron los 1722 ± 261 g y 1526 ± 266 g, y el grupo de pulpos grandes un peso medio de 1903 ± 297 g.

Discusión y conclusiones

La supervivencia de los pulpos fue en general superior a los valores observados en los experimentos de engorde con separación por tamaños muy uniformes o por sexos, lo que se podría achacar a la época de engorde (invierno), pero también a la separación de los ejemplares por tamaños a grosso modo, evitando así que introduzcan en una misma jaula pulpos con tamaños muy dispares. Los pesos medios de los pulpos al final del periodo de engorde estaban bastante por

debajo de las medias observadas en otras ocasiones, pero eso se debió al acortamiento imprevisto del experimento por razones de fuerza mayor.

El engorde de pulpos obtenidos del medio natural y seleccionados para formar tres clases de grupo con pesos iniciales similares parece ser ventajoso frente al engorde típico. La mortalidad fue muy baja en todos los grupos y los pesos medios de cada grupo iban siguiendo el patrón normal de la época de engorde. Con estas medidas se puede ahorrar alimento y mejorar la gestión de las jaulas, ya que el tiempo de engorde se acortaría en las jaulas con ejemplares más grandes y se prolongaría únicamente en aquellas que lo necesitan. La gestión de la venta de pulpos también se beneficia ya que se pueden quitar los pulpos según sus pesos iniciales a lo largo de varias semanas. En muchas situaciones con jaulas típicas urge quitar los pulpos de varias jaulas al mismo tiempo ya que las tasas de crecimiento van iguales.

3.3.3. Evaluación de la viabilidad de un sistema de engorde en jaula en el puerto pesquero de Conil de la Frontera (Cádiz).

IFAPA Centro El Toruño, C.A. de Andalucía.

Introducción

En España, los moluscos cefalópodos representan uno de los recursos pesqueros más apreciados, alcanzando gran relevancia económica. En Andalucía representa un elevado porcentaje del total de capturas de moluscos (Rodríguez-Rúa et al., 2005). La elevada presión extractiva a que se ha visto sometido el pulpo de roca *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) ha hecho necesaria la adopción de ciertas medidas reguladoras de la explotación pesquera de esta especie, así como la búsqueda de alternativas como el cultivo. La Cofradía de Pescadores de Conil fue pionera en la autorregulación del tamaño de captura del pulpo desde 1987, cuando aún no existían medidas regulatorias de la pesquería de la especie en España. Por otro lado, y como consecuencia de los resultados obtenidos en distintos Planes Nacionales de Cultivos Marinos, financiados por la JACUMAR y con fondos propios de la Consejería de Agricultura y Pesca de la J. de Andalucía, ha sido objeto de una transferencia de la tecnología apropiada para el cultivo de peces y moluscos en sistemas en mar abierto, actividad que actualmente viene desarrollando. El engorde del pulpo continúa en una fase de investigación y optimización a través de los distintos Planes Nacionales de JACUMAR durante estos últimos años, pero la elevada tasa de mortalidad larvaria en condiciones de cautividad imposibilita hasta la fecha el cultivo integral.

Dentro del marco de este proyecto, el objetivo de este estudio es el desarrollo y optimización de técnicas de engorde de pulpo en jaula. Adicionalmente, se plantea la evaluación de la viabilidad y rentabilidad de un sistema de engorde en jaula en un puerto pesquero como el de Conil (Cádiz), cuya actividad pesquera tradicional y extractiva es complementada con una actividad acuícola basada en el cultivo de dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*), corvina (*Argyrosomus regius*), mejillón (*Mytilus edulis*) y ostra (*Crassostrea angulata*). El presente informe describe y analiza los experimentos de engorde de pulpo en jaula realizados entre noviembre de 2009 y agosto de 2010 en Conil de la Frontera.

Objetivos:

Como objetivo general, se plantea determinar la viabilidad del engorde de pulpos como actividad complementaria sostenible a la pesca extractiva en la cofradía de pescadores de Conil, económicamente rentable para el sector, y de posible comercialización en época de veda. Para ello, se determinaron los siguientes objetivos parciales:

- Abastecimiento de juveniles para el engorde por parte de los propios pescadores, sin distinción de sexo ni tamaño para facilitar su recolección y gestión.
- Alimentación consistente en descartes de la pesca artesanal y de la actividad piscícola del sector acuícola de la propia cofradía.
- Ensayo de estructura de engorde económica, de fácil manejo y mantenimiento.
- Determinar el crecimiento de pulpos en distinta época del año.
- Evaluar la ocurrencia de las puestas en condiciones de cultivo

Material y métodos

El estudio de engorde experimental de *O. vulgaris* en jaula se realizó en el puerto pesquero de Conil de la Frontera (Cádiz). Se realizaron dos experimentos diferidos en el tiempo y empleando diferentes estructuras flotantes:

- El experimento 1 se realizó entre noviembre de 2009 y febrero de 2010, correspondiendo con la época invernal.
- El experimento 2 se realizó entre mayo y agosto de 2010, correspondiendo con la época estival.

El método de pesca empleado consiste en el empleo de un arte llamado localmente “chivo” consistente en una potera con dos o tres coronas de anzuelos que es cebada con sardina, y es arrastrada por el fondo en espera de que un pulpo ataque, momento en el que el pescador hala y engancha el ejemplar que es subido a bordo. Este sistema se ha manifestado como viable y con una baja mortalidad, ya que las posibles heridas causadas por los anzuelos son superficiales y se cicatrizan rápidamente.

Las operaciones de muestreos y limpieza se realizaba utilizando la grúa disponible en la embarcación auxiliar de la Cofradía. (Fig. 1)

Experimento 1

En el interior de una estructura flotante (Fig. 2), se empleó una red en forma de bolsa de aproximadamente 12 m³ (2x2 m² de superficie y 3 m de altura). La red comercial (Dynaema) es utilizada para cultivo de peces en jaula y se caracteriza por su gran resistencia a la tensión y a roturas por desgaste. Como refugios se introdujeron 40 alcatraces de PVC distribuidos en varias líneas a distintas alturas y suspendidos de vigas transversales (Fig. 3). Entre el 11 y el 25 de noviembre de 2009 los pescadores capturaron un total de 51 individuos de *O. vulgaris* con pesos comprendidos entre 100 y 1000 g.

Los individuos fueron alimentados diariamente con diferentes especies de peces como bogas (*Boops boops*), caballas (*Scomber scombrus*), lubinas (*Dicentrarchus labrax*), congrio (*Conger conger*), corvinas (*Argyrosomus regius*), y doradas (*Sparus aurata*) procedentes de descartes de la actividad acuícola y pesquera de la Cofradía de Conil de la Frontera.

Durante los muestreos biológicos, los ejemplares fueron pesados individualmente con una precisión de hasta 10 g. El experimento comenzó el 25 de noviembre de 2009 y finalizó el 4 de febrero de 2010.

Durante el período de engorde correspondiente al experimento 1 se registraron faltas de ejemplares de las jaulas. Aunque estas faltas pueden ser debidas a fugas por el deterioro de la red de la jaula empleada (Fig. 4), no se puede descartar el robo, dado que la estructura de cultivo se encontraba totalmente abierta para facilitar la introducción de ejemplares capturados. Si bien estas faltas dificultaron el desarrollo experimental del estudio, no impidieron el seguimiento de la evolución temporal del engorde experimental de pulpo en jaula.



Fig 1: Embarcación utilizada en operaciones de limpieza y muestreo.



Figura 2: Jaula consistente en una red fijada a una estructura flotante. De las traviesas se suspenden ristras de alcatruces

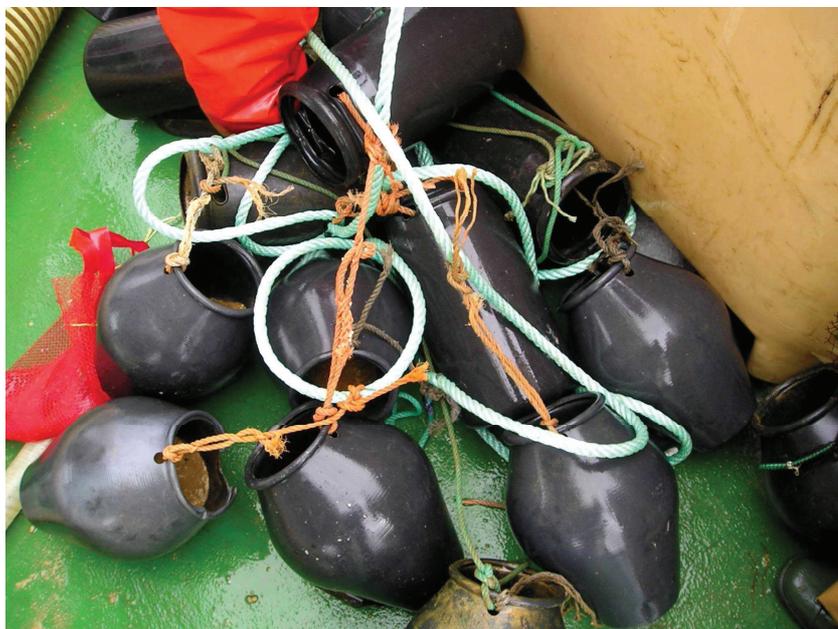


Fig 3 : Alcatruces plásticos para la pesca de pulpos utilizados como refugios.



Fig. 4: Intento de fuga de pulpo durante el muestreo a través de una rotura de la red

Experimento 2

Ante las dificultades surgidas en el manejo de la estructura anterior para su limpieza y muestreos, además de las roturas observadas en la red, se construyó una jaula rígida de 4,5 m³ (dimensiones de 2 x 1,5 m² de superficie y 1,5 m de altura), consistente en una estructura metálica de hierro galvanizado provista de una malla de PVC de 1 cm de luz. Fijados a la estructura de hierro se añadieron 40 refugios apilados de PVC con forma de T de sección cilíndrica de 16 cm de diámetro. La jaula se fijó a la estructura de una batea flotante y se cubrió con una malla de sombreo para evitar la incidencia solar directa (Figura 5).

Entre el 13 de abril y el 24 de mayo de 2010 se capturaron un total de 31 individuos con pesos comprendidos entre 556 y 1280 g. Los individuos fueron alimentados con diferentes especies de peces (bogas, doradas, lubinas y corvinas), procedentes de descartes de la actividad acuícola y pesquera de la Cofradía de Conil.

Los muestreos se realizaron extrayendo completamente la jaula de la estructura flotante, y los ejemplares fueron pesados individualmente con una precisión de 10 g. El experimento comenzó el 10 de mayo de 2010 y finalizó el 22 de julio de 2010.



Figura 5: Jaula utilizada en el experimento 2 donde se aprecia la estructura metálica cubierta de red plástica de 1 cm de malla, y los refugios en T de PVC. Una vez sumergida es cubierta con una malla de sombreo.

Resultados

Experimento 1

La captura de pulpos por parte de los pescadores fue esporádica, alargándose durante un período de 22 días. Con objeto de evitar más dispersiones de tamaños en los individuos capturados, se consideró cerrado el lote para su engorde en 51 ejemplares.

El rango de tamaño de los individuos capturados estuvo comprendido entre 100 y 800 g, con un peso medio inicial de 506 ± 274 g. La Tabla I muestra los resultados del experimento.

Tabla I: Condiciones iniciales y finales del engorde.

fecha	días	N	rango	Sup (%)	Pm(g)	desv	Crec/mes(g)	IPD(g)	SGR %
25/11/2009	1	16	100 - 800	100	506	274	880	29,35	3,69
17/12/2009	23	51	700 - 1800	100	1181	252	292	9,73	0,69
4/2/2010	72	15	1500 - 2000	29	1658	228	480	16,00	1,65

Aunque el robo no queda descartado, destaca las fugas registradas a partir del 17 de diciembre, posiblemente por una única rotura de la red (Figura 4). El descenso de la salinidad del agua experimentado en el puerto de Conil durante el invierno de 2009 como consecuencia directa de las intensas precipitaciones registradas durante ese período en la zona pudieron influir en el bienestar de los animales y contribuir de manera decisiva a su fuga.

En efecto, durante los meses de diciembre y enero se registraron precipitaciones anormalmente elevadas en la zona, destacando 56 L /m² el 21 de diciembre y 46 L / m² el 23 de enero (Figura 6), contribuyendo a una precipitación media diaria de $7,4 \pm 11,8$ L / m².

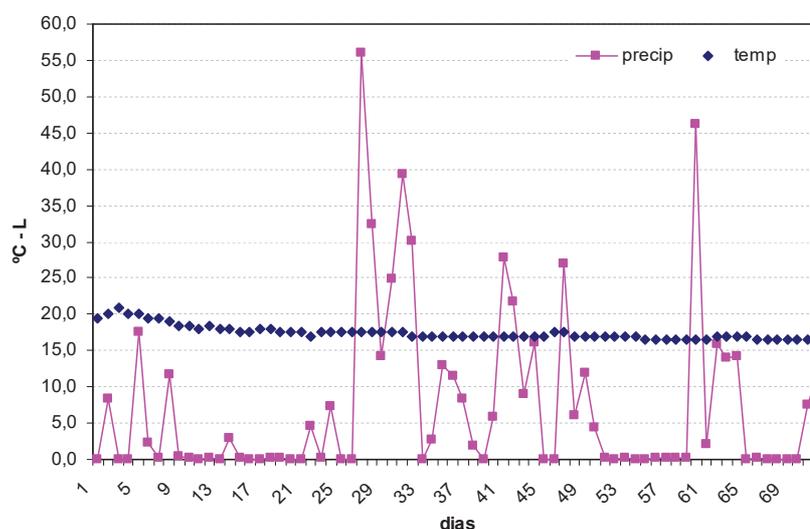


Figura 6 : Valores de temperaturas y precipitaciones registradas durante el período de engorde.

Como consecuencia, se estima la supervivencia final del cultivo en un 29%, si bien, no se corresponde con la muerte de individuos, ya que no se encontraron indicios que lo confirmara.

La temperatura del agua registrada varió entre 21°C de máxima en noviembre y 16,5 °C en enero, con un valor medio de $17,5 \pm 1,0$ °C, considerándose valores normales en la zona.

El crecimiento medio estándar registrado de los ejemplares fue 1,65 %, valor similar a los registrados en otros experimentos por individuos menores de 1 K. El crecimiento mensual medio fue de 480 g, correspondiente a un crecimiento diario de 16g.,

La figura 7 muestra la evolución del peso medio registrado, observándose una primera fase de 23 días en la que se experimenta un incremento diario de peso de 29 g, si bien, este valor debe ser tomado con cautela ya que durante este período se fueron aportando a la jaula individuos capturados de diferentes pesos no registrados por los pescadores.

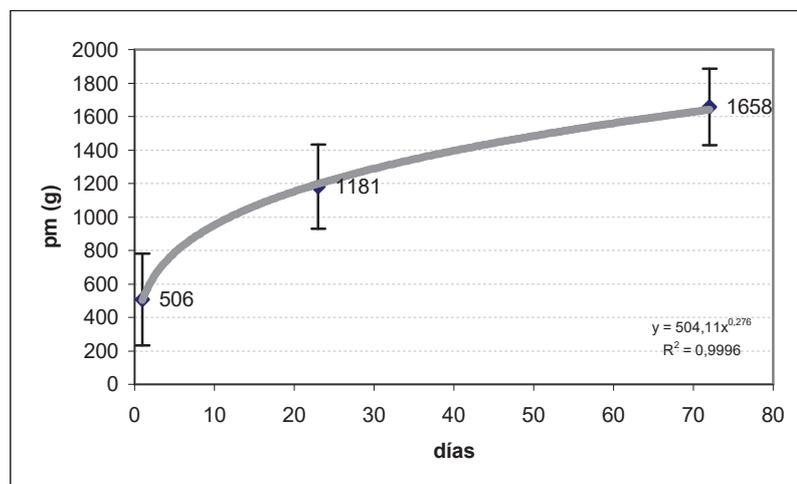


Figura 7 : Evolución del peso medio de los ejemplares cultivados.

En diciembre se determinaron los pesos reales de los ejemplares estabulados observándose un amplio rango de tallas comprendido entre 700 y 1800 g, predominando los pesos entre 1000 y 1400 g. (Figura 8)

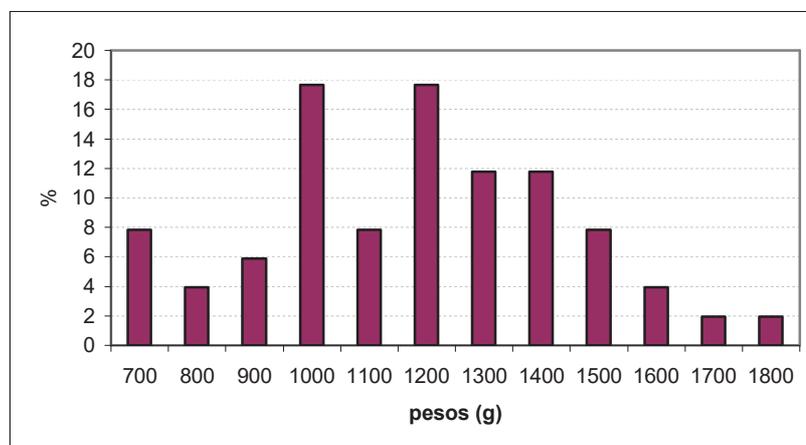


Figura 8: Frecuencia de tallas registradas en diciembre de 2009.

A partir de diciembre se observa una ralentización del crecimiento, registrándose incrementos de pesos diario de 9,7 g (292 g/mes). El descenso de temperatura en esta época del año explicarían este hecho.

El peso medio final alcanzado fue de 1658 ± 228 g, si bien, puede estar subestimado por la falta del resto de ejemplares estabulados inicialmente.

El bajo número de individuos (15 ejemplares) que permanecían en cultivo el 4 de febrero, y los inconvenientes observados en la estructura de cultivo nos decidió dar por finalizado el experimento, abordando un nuevo ciclo de engorde durante la primavera y verano.

Experimento 2

Desde el 13 de abril al 28 de mayo se capturan 30 pulpos de pesos comprendidos entre 556 y 2096 g. Las capturas son esporádicas y de pesos variables, no pudiéndose establecer un lote de pesos homogéneo debido a la escasez de capturas aportadas al cultivo experimental. El 28 de mayo se introducen los últimos 8 ejemplares de 882 g de peso medio. Para su seguimiento, se considera pues un período de cultivo de 73 días comprendido entre el 10 de mayo y el 22 de julio. La temperatura media durante el período de cultivo considerado fue de $19,5 \pm 1,9$ °C, registrándose la mínima de 17,5 °C en mayo, y la máxima de 22,5 °C en julio.

Tabla II: Condiciones iniciales y finales del ciclo de cultivo.

Fecha	días	N	Pm	desv	M	m	PT	P. Inicial (g)	1309
13/04/2010	1	16	1399	426	2096	556	22381	Nº inic.	30
10/05/2010	24	22	1309	405	2096	556	28816	P. Final(g)	2546
18/05/2010	32	22	1723	631	3000	850	34450	Nº final	13
28/05/2010	42	30	1745	658	3000	714	43273	Días cultivo	73
16/06/2010	61	20	2015	947	4150	1000	40300	IPD (g)	17
07/07/2010	82	15	2373	1018	4100	1050	35600	g/mes	509
22/07/2010	97	13	2546	628	3900	1700	28800	SGR (%)	0,91
17/08/2010	123	7	2464	409	3000	1900	17250	Superv (%)	43

La Tabla II muestra los valores registrados al final del cultivo. Destaca la supervivencia final del período del 43 %, debido principalmente al canibalismo observado por la gran dispersión de tamaños, y por la muerte de hembras en estado de postpuesta. Las tasas de crecimiento pueden estar subestimadas por la introducción de individuos nuevos de pesos inferiores a la media durante el período de cultivo, y por la mortalidad de hembras de tamaños superiores a 3 k después del desove.

En cualquier caso, los valores de 509 g de crecimiento medio mensual registrado, y de 0,91 % de la tasa de crecimiento estándar son similares a los registrados en otros ensayos en los que los pulpos son alimentados exclusivamente con peces como es nuestro caso (Socorro et al. 2005).

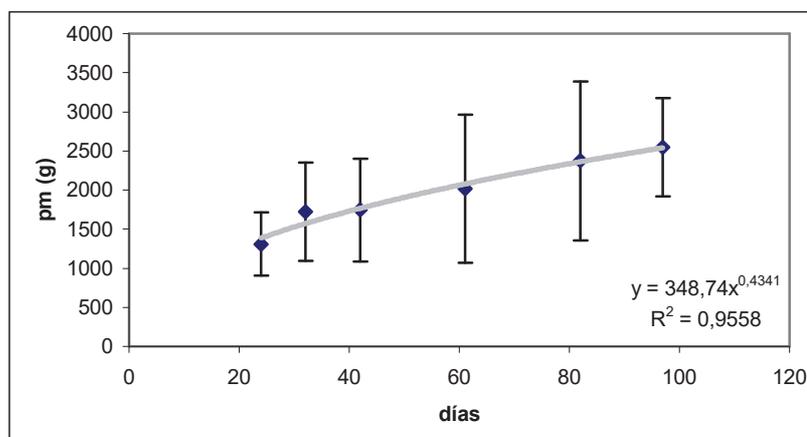


Figura 9 : Evolución de los pesos medios registrados durante el cultivo

La figura 9 muestra la evolución del crecimiento de los pulpos en estas condiciones. Destaca la alta dispersión de tallas observada como consecuencia de una falta de clasificación previa de tamaños, de la introducción durante el período de ejemplares nuevos de tallas inferiores a la media del momento, y posiblemente como se apunta en otros trabajos (Tuñón et al. 1999,2003) al establecimiento de una jerarquía que condiciona su comportamiento alimenticio.

Ocurrencia de puestas.

La determinación de sexos fue realizada tanto al principio como al final del experimento, resultando una sex-ratio inicial de 30% de machos y 70 % de hembras. Al final, esta relación fue de 10 % de machos y 90 % de hembras.

La sex-ratio en una población natural es de 1:1, siendo el tamaño de los machos generalmente mayor que el de las hembras. La relación inicial anormal en nuestro experimento de 3:7 puede ser determinada por el hecho de que el pescador destina los ejemplares mayores (que suelen ser machos) a su venta en lonja, quedando los menores (hembras) para el experimento. Se da pues una selección determinada por la mayor rentabilidad económica en lonja de los machos.

Mientras que en el Experimento 1 no se observó ninguna puesta dado la época del año en la que se realizó, en el Experimento 2 el número de puestas (Fig.10) fue de 9, respetándose y eclosionando todas. Las hembras murieron después de la eclosión de los huevos, durante los meses de julio y agosto.



Figura 10: Puestas de pulpo en el interior de los refugios localizados tanto en el fondo de la jaula (izqda) como en la columna a media altura (dcha).

Temperaturas.

La temperatura del agua es un parámetro que determina el crecimiento de los pulpos en cautividad, estableciéndose un rango óptimo entre 18 y 22 °C aproximadamente.

Las temperaturas registradas durante el desarrollo de los dos experimentos realizados en Conil (fig. 11) han sido entre 16,5 °C en los meses de febrero a abril, y 24,5 °C en agosto.

Por tanto, podemos considerar que el período hábil para el engorde en esta zona es el comprendido entre los meses de octubre y julio aproximadamente, siendo agosto y septiembre cuando la temperatura del agua no lo aconseja. En cambio, los meses entre abril y julio serían los que la temperatura del agua se encuentra entre los valores óptimos, y por tanto, el crecimiento es también mayor. Durante los meses

invernales, los valores de temperatura inferiores determinan un menor crecimiento, pero la mortalidad de las hembras por postpuesta es nula, por lo que es un período de engorde a considerar.

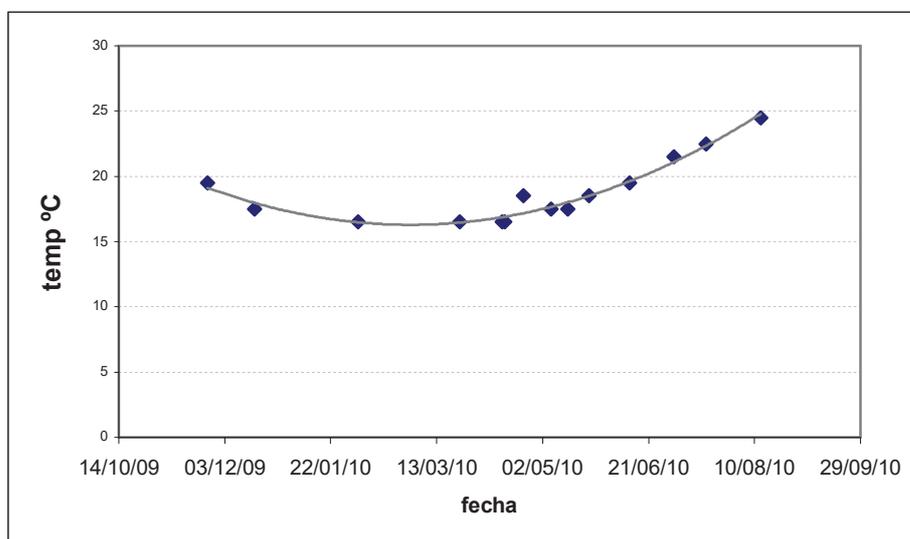


Figura 11 : Temperaturas registradas durante el período de engorde

Discusión

Tanto en el experimento 1 como en el experimento 2 se registraron casos de canibalismo, tanto parcialmente (básicamente predación de tentáculos) como de individuos completos. El canibalismo parcial puede ser debido a estrés derivado de elevadas densidades poblacionales, o bien causado por la falta de un suministro adecuado de alimento. Esta última es la principal causa del canibalismo total, favorecido por la estabulación de individuos de tallas muy dispares dentro de la misma jaula.

Los valores calculados de las tasas de crecimiento presentan gran dispersión y variabilidad, especialmente en el experimento 1, en cual el número de observaciones es bastante reducido. En cualquier caso, las tasas de crecimiento obtenidas, son similares a las referidas por otros autores (Iglesias et al., 1997; Rodríguez y Carrasco, inédito; Rodríguez y Carrasco, 1999; Rodríguez et al., 2005, Socorro et al. 2005, Chapela et al. 2006). La elevada variabilidad en la velocidad de crecimiento es una característica común entre los cefalópodos (Forsythe y Van Heukelem, 1987).

Gran parte de las diferencias encontradas en el crecimiento del pulpo han sido asociadas a la calidad del alimento, supeditada a la disponibilidad de las capturas de las pesquerías locales en cada estudio (Aguado y García, 2002). Las tasas de crecimiento pueden variar en función del tamaño, el sexo y la maduración sexual (principalmente en hembras), de la tasa de alimentación, la calidad del alimento, y las condiciones ambientales, fundamentalmente la temperatura.

Chapela et al. (2006) refieren valores de tasas de crecimiento en la Ría de Vigo separados por tamaño, sexo y estaciones (invierno y verano). Los valores de crecimiento observados por estos autores varían entre 240 g mes⁻¹ (hembras de 1,16 kg de peso medio, en invierno) y 780 g mes⁻¹ (hembras de 1,6 kg de peso medio, en verano). Así mismo, la tasa instantánea de crecimiento registrada en la Ría de Vigo varió entre 0,273 mes⁻¹ (machos de 1,21 kg de peso medio, en invierno) y 0,681 mes⁻¹ (hembras de 1,6 kg de peso medio, en verano).

Durante el citado estudio, los valores de temperatura del agua de la Ría de Vigo oscilaron entre $13,4 \pm 1,2$ ° C y $14,2 \pm 1,4$ ° C en invierno; y entre $16,2 \pm 1,3$ ° C y $16,5 \pm 1,7$ ° C en verano. Estos valores de temperatura del agua durante el verano son bastante similares a los registrados en el experimento 1 del presente estudio ($17,5 \pm 1,0$ °C de temperatura media).

En estos experimentos, las tasas de crecimiento ($0,480$ g mes⁻¹, 509 g mes⁻¹), se acercan a los valores máximos registrados por las hembras de la Ría de Vigo en verano, teniendo en cuenta la diferencia en la alimentación, exclusivamente de peces en nuestro caso.

Conclusiones

Sobre la estructura de engorde:

La red usada en jaulas de peces durante el experimento 1 no es fiable ante las mordidas de los pulpos, aunque sea “especial” (Dynaema), siendo además su manejo complicado. Los refugios deben ser suspendidos de traviesas ya que no pueden ser fijados a la red.

La estructura construida con acero galvanizado y malla plástica de 1 cm en el segundo experimento parece apropiada en las condiciones hidrodinámicas del puerto, no habiéndose detectado roturas de la malla por efecto de los pulpos. Además, su manejo es fácil, y los refugios pueden ser fijados a la estructura. Hay que añadir su bajo coste, aunque no está garantizada frente a robos.

Sobre la gestión del cultivo:

La captura de individuos de 1 k por los pescadores no fue la esperada, manifestándose poca implicación del sector. La rentabilidad económica en las ventas de pulpo en lonja hizo que sólo dos pescadores se implicaran en la captura destinada a los experimentos.

El suministro de pulpos para los experimentos no fue en ningún caso continuado, lo que incidió de forma determinante en el cálculo de las tasas de crecimiento y en la determinación de la carga óptima.

Los tamaños de los pulpos aportados fue muy heterogéneo, lo que influyó en la ocurrencia de canibalismo.

Con excepción de los muestreos, el seguimiento y la alimentación diaria lo realizó el personal de apoyo a la comercialización del área de acuicultura de la cofradía, con escaso tiempo de dedicación y no siempre siguiendo las pautas recomendadas.

A medida que avanza la temporada de pesca, unido al método selectivo de pesca, el tamaño de los individuos aportados es mayor como corresponde al tamaño medio de la población natural.

Sobre los resultados del engorde:

La aportación continuada y en poco tiempo de pulpos para su engorde no fue la adecuada, estabulándose individuos de diferentes tamaños en un tiempo muy prolongado.

Como medida preventiva de canibalismo, es importante realizar un adecuado estabulado de individuos simultáneo por tallas, proveer la jaula de refugios y asegurar un aporte continuo de alimento.

El carácter artesanal y selectivo de la pesca en Conil no ofrece descartes para la alimentación, siendo todo el alimento aportado procedente de peces de las jaulas de acuicultura de la cofradía y del Centro El Toruño.

Las tasa de crecimiento son similares a las registradas en otros ensayos en los que la alimentación consistían exclusivamente de peces, obteniéndose ejemplares de hasta 4 k de peso en el cultivo de primavera-verano.

Entre 500 g y 3 kg, el crecimiento del pulpo en jaula es rápido y se ajusta mejor a un modelo potencial, tanto en las tallas menores como en las mayores, así como en el rango completo de tallas.

El período hábil de engorde en estas condiciones está comprendido entre los meses de octubre y julio aproximadamente, siendo agosto y septiembre cuando la temperatura del agua no lo aconseja.

Los meses entre abril y julio serían los que la temperatura del agua se encuentra entre los valores óptimos.

La ocurrencia de puestas durante el período de primavera y verano en los refugios de la jaula está constatada, pudiéndose por tanto respetar la incubación y asegurar nuevos reclutamientos.

Considerando y subsanando los inconvenientes experimentados, se plantea pues en un futuro el ensayo de 3 ciclos de engorde de 3 meses aproximadamente cada uno, entre los meses comprendidos entre octubre a diciembre-enero, de enero a marzo-abril, y de abril a junio-julio, duración que vendrá determinada por el tamaño de los ejemplares inicialmente estabulados, su homogeneidad, y por la temperatura del agua.

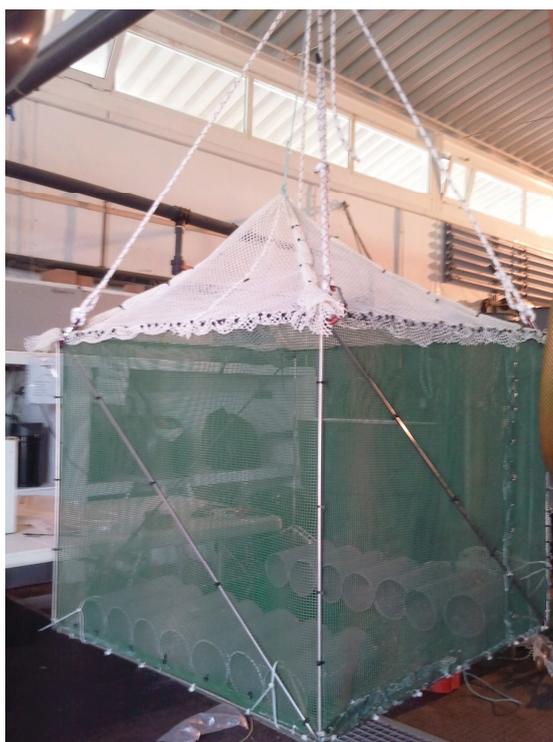
En general, este estudio preliminar indica que el cultivo de engorde de pulpo podría resultar rentable para la Cofradía de Pescadores de Conil de la Frontera, ya que su estratégica situación geográfica y su crucial actividad pesquera-acuícola la convierten en un candidato idóneo para este tipo de acuicultura. El engorde de juveniles de pulpo de roca mediante los descartes de pesca y acuicultura supone una actividad paralela que representa un aporte económico extra, simultaneando cultivos de diferentes especies y realizando un uso sostenible de los recursos.

3.3.1. Ensayos de engorde en jaulas en Valencia.

UPV (Valencia).

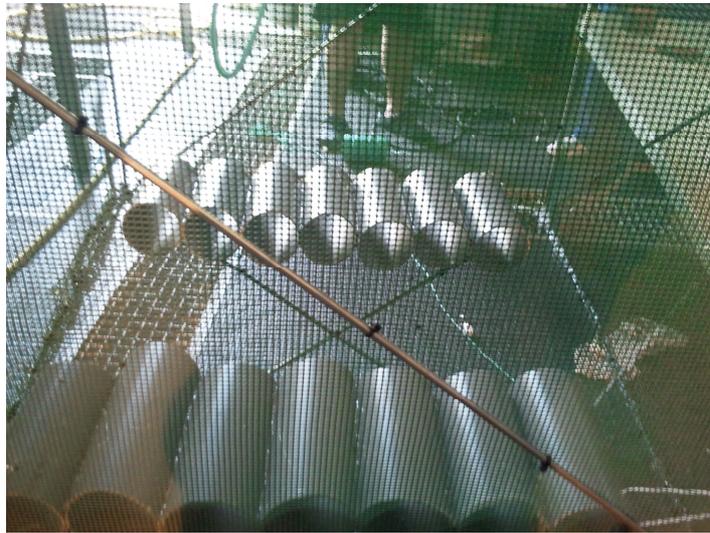
Durante el mes de Junio de 2011, se llevó a cabo una prueba con jaulas en el mar. Se construyeron dos jaulas con capacidad de albergar entre 10 y 15 animales. Las jaulas tenían unas dimensiones de 1m de largo x1m de ancho x 1m de alto. Estaban formadas por una estructura de varillas de acero inoxidable, soldadas formando un cubo. Se reforzaron los laterales colocando una varilla dispuesta en diagonal y la base de la jaula con 2 varillas formando una cruz (Fotografía 1).

Los laterales y la base de la jaula estaban forrados con malla verde de 1cm de luz, sujeta a la estructura mediante hilo de nylon, bridas y pegamento plástico. La parte superior de la jaula, estaba formada por red de pesca con una luz de malla de 0.75 cm. La abertura para el manejo de los animales y la alimentación, se encontraba en la parte superior, siendo esta un corte realizado en la red, que debe descoserse y coserse con cada acción de manejo, para evitar fugas.



Fotografía 1. Jaulas experimentales.

Las jaulas contenían refugios para los pulpos (Fotografía 2), que consistían en tubos de PVC bien sujetos a la estructura para evitar su movimiento debido a las corrientes. Se colocaron un 50 % más de los alojamientos necesarios para evitar enfrentamientos territoriales.



Fotografía 2. Detalle de los refugios en el interior de la jaula

Las jaulas se ubicaron dentro de un polígono de bateas de mejillones en el puerto de Valencia. Protegidas de posibles depredadores mediante la red de protección de la misma batea, se colocaron sujetas a la estructura de travesaños mediante 4 cabos que salían de cada esquina de la jaula, sujetos a la misma mediante mosquetones de acero inoxidable (Fotografía 3).

Las jaulas se encontraban sumergidas a una profundidad de 2 metros durante el día y se izaban para la alimentación de los pulpos hasta la superficie. Se colocó una escalera para poder descender al agua, ya que todas las tareas solo se podían llevar a cabo dentro del mar.



Fotografía 3. Batea de mejillones del Puerto de Valencia.

Los pulpos en experimento fueron pescados en la zona de Tarragona, cerca de Cases d'Alcanar. Fueron trasladados en mallas individuales, en una cuba con oxígeno hasta las instalaciones del puerto de Valencia donde fueron alojados en las jaulas en experimento, previo pesaje.

Se alojaron 8 y 16 animales respectivamente, con el fin de estudiar que densidad de cultivo funcionaba mejor en este tipo de jaulas.



Fotografía 4. Distribución de los pulpos en las jaulas.

La alimentación se realizaba a diario, a las 9 de la mañana. Se alternaba la alimentación entre Cangrejo (*Liocarcinus holsatus*) y boga (*Boops boops*). Los restos de alimento no ingerido se retiraban al día siguiente antes de dar la toma, en la medida de lo posible.



Fotografía 5. Pulpos durante la prueba.

Resultados

La prueba concluyó transcurridos 30 días, por causas ambientales, ya que un temporal provocó la rotura de las jaulas, y la consecuente fuga de los animales. Dicho suceso ayudó a descubrir los puntos débiles del diseño.

Como se ve en la Fotografía 6, los mosquetones que sujetaban la cuerda a la jaula no soportaron el exceso de tensión provocada por el temporal, y acabaron partiéndose, provocando roturas en la malla, y descolgando la jaula, dejando todo el peso aguantado por solo dos puntos.



Fotografía 6. Rotura del mosquetón.

Debido al aumento de la frecuencia de las olas, la estructura de la jaula se retorció, provocando que algunas de las soldaduras se rompieran, y con ella la base de la jaula, lo suficiente para permitir la fuga de los animales.

Con toda esta información y experiencia se han realizado unos cambios, tanto de materiales como de diseño (Fotografías 7 y 8), para realizar una nueva prueba durante el otoño de 2011, que no ha podido realizarse por disponibilidad de la batea. Esta nueva jaula está realizada con placas de plástico más grueso perforado, y refuerzos de escuadras de aluminio tratado, a lo largo de toda la estructura, y tendrá capacidad para albergar a 10 animales. Sus dimensiones son 0.50m de ancho x 0.50m de largo x 1.5m de alto.



Fotografía 7. Nueva jaula.



Fotografía 8. Detalle del interior de la jaula.

3.4. Ecomomía.

3.4.1. Viabilidad/rentabilidad económica de explotaciones de pulpo en jaulas en función del número de ciclos de producción anual.

IMIDA, C.A. de Murcia.

Introducción

Octopus vulgaris esta caracterizado por un rápido crecimiento, superior al 5% del peso corporal al día (Mangold, 1983; Iglesias *et al.*, 1997; Aguado Giménez y García García, 2002); y una alta eficiencia de alimentación, incorporando a su propio peso el 30-60% del alimento ingerido (Mangold y Boletzky, 1973; Mangold, 1983; Aguado Giménez y García García, 2002). Sin embargo, en ensayos en tanques y en jaulas en el Mediterráneo se ha observado que estos altos rendimiento se obtienen solamente entre los 16 y 21°C y la mortalidad se incrementa notablemente a temperaturas superiores a los 22°C (Aguado Giménez y García García 2002, García *et al.*, 2009). No obstante, se pueden obtener resultados satisfactorios en ejemplares pequeños (50-150 g) hasta temperaturas de 25°C (Miliou *et al.*, 2005). Para que se desarrolle la cría industrial del pulpo es aún necesario que se desarrollen las técnicas que permitan la producción masiva de subadultos para iniciar el engorde (Navarro y Villanueva, 2000, 2003; Villanueva *et al.*, 2002; Iglesias *et al.*, 2004, 2007), así como un pienso específico con el que se obtengan rendimientos satisfactorios (Lee, 1994; Vaz-Pires *et al.*, 2004; Cerezo Valverde *et al.*, 2008). En el Mediterráneo, además, destacan dos condicionantes particulares: primero, esta actividad estaría limitada por las temperaturas altas durante los meses de verano (Aguado Giménez y García García, 2002), y segundo, por cuestiones ambientales y de ordenación del litoral se tendría que realizar en mar abierto (sistemas off-shore).

En el Mediterráneo, la temperatura varía ampliamente de 10-14°C en invierno y de 25 a 27°C en verano (Person-Le Ruyet, Mahé, Le Bayon y Le Delliou 2004; García García *et al.*, 2009), y, por tanto, el engorde de esta especie está limitado a unos 7-8 meses al año entre octubre y junio (García García *et al.*, 2009). No obstante, dado el rápido crecimiento de esta especie el engorde se puede realizar en dos ciclos de engorde. García García *et al.* (2009) a partir de su ensayo de engorde de pulpo en mar abierto (3 millas de la costa), en el área donde se desarrolla el engorde de peces, plantearon dos posibilidades partiendo de ejemplares de 0,7 kg. A: Dos ciclos de engorde alcanzando los ejemplares tamaños de 2 a 3 kg de peso, y partiendo de ejemplares de 0,7 kg. B: un solo ciclo de engorde alcanzado pesos superiores a los 3,5 Kg. Para evaluar la viabilidad del engorde de pulpo en mar abierto con el conocimiento actual así como para decidir sobre las dos alternativas anteriores es necesario realizar un estudio económico comparativo de ambas opciones.

Es evidente el interés existente por la diversificación de la producción acuícola con nuevas especies. Con el objeto de aumentar la diversidad de los productos de la acuicultura marina es conveniente el cultivo de especies que presenten un consumo extendido geográficamente así como un elevado valor comercial, y este es el caso del pulpo (Vaz-Pires *et al.*, 2004; Chapela *et al.*, 2006).

El objeto del presente estudio ha sido realizar un análisis económico-financiero para analizar la rentabilidad del engorde de pulpo en el Mediterráneo en sistemas *offshore*, analizando la

idoneidad, desde un punto de vista económico, de realizar uno o dos ciclos de engorde. Así mismo, se desarrollan ecuaciones de viabilidad/rentabilidad útiles para analizar posibles escenarios futuros en el desarrollo del cultivo. Son modelos econométricos que tienen la finalidad de estimar parámetros económicos ligados a la producción, que aún no están definidos a nivel del cultivo comercial a gran escala, tales como precio de venta del producto final, coste del alevín, coste de alimentación o la influencia de la inversión sobre la viabilidad y rentabilidad de la actividad empresarial. El modelo es válido para unos rangos preestablecidos de dichos parámetros, que se han definido en base a las características de esta especie. Para la elección de las variables utilizadas en el modelo se establece la contabilidad de costes de la explotación analizada.

El uso de modelos matemáticos basados en la econometría (Greene, 1998; Alcaide, 2001) puede emplearse para establecer determinadas variables de producción en nuevas especies a desarrollar comercialmente, convirtiéndose la econometría en una herramienta de gran utilidad para la evaluación económica en una primera aproximación del engorde de las nuevas especies (García García y García García, 2006; 2010).

Material y métodos.

Condiciones experimentales de cultivo.

Para estimar la inversión se ha diseñado una explotación de engorde en jaulas en mar abierto con capacidad para 30.000 individuos por ciclo, es decir, unas 150 jaulas con sus respectivos fondeos y balizamientos. La jaula utilizada es la descrita en el trabajo de García García et al. (2009), que a pesar de tratarse de un diseño experimental puede servir de base para realizar los cálculos, por otro lado los únicos datos disponibles en mar abierto proceden de este estudio. La jaula estaba construida en acero inoxidable y tenía 4 m de largo, 2 m de ancho y 1 m de altura, dividida internamente en dos compartimentos de 4 m³ cada uno. La luz de malla era de 3,5 y 1,6 cm de diagonal mayor y menor, respectivamente. En el interior y en las paredes de la jaula se instalaron 200 tubos de PVC (16 cm de diámetro y 25 cm de largo) por cada compartimento. Cada compartimento tenía en la parte superior un tambucho en forma de caja de 0,85 m de largo, 0,85 m de ancho y 50 cm de alto, y provisto de una puerta por donde se accede al interior. En los laterales superiores de la jaula llevaba tubos de polietileno de alta densidad que actuaban de flotadores.

El resumen de capítulos de la inversión inicial que se muestra en la Tabla 1 incluye asimismo los equipos, vehículos y maquinaria necesarios para el desarrollo de esta actividad y gastos varios tales como mobiliario, concesión administrativa, licencia de obras, proyecto y dirección de obra, evaluación de impacto ambiental. Además la explotación necesitaría un edificio en tierra así como un muelle de carga y descarga habilitado en un puerto pesquero cercano. El edificio estaría destinado a almacén, cámara isoterma para conservación de pienso, oficinas, aseos y vestuarios, cámara frigorífica, sala de manipulado.

Se utilizaron datos y valores extraídos de diversas fuentes, en unos casos organismos públicos tanto del ámbito investigador como administrativo, y en otros, de empresas privadas del sector de la acuicultura. Las características técnicas y los precios de los distintos medios de producción, se han obtenido de diversas empresas suministradoras, así como de bases de datos oficiales de precios y diversas publicaciones (Gasca-Leyva et al., 2002; García García et al., 2004; Ruesga et al., 2005).

Alimentación y crecimiento.

El crecimiento del pulpo se ha estimado con la ecuación desarrollada por García García et al. (2009) a partir de datos obtenidos en una jaula experimental en mar abierto. Dicha ecuación es: $G=5.617-0.663\ln W+0.087T-1.256SWH$, donde G es la tasa específica de crecimiento (% peso corporal día⁻¹), W es el peso corporal (kg), T la temperatura (°C) y SWH la altura significativa de ola (m). Como alimento se suministra cangrejo (*Carcinus mediterraneus*) y boga (*Boops boops*) en días alternos, un día cangrejo y tres días boga, siguiendo lo establecido por García García y Cerezo Valverde (2006), y 6 días a la semana (García García y Cerezo Valverde, 2004). El suministro diario es 3.77% del peso corporal, lo que supone una ingesta de la fracción comestible el 46% de cangrejo y el 54% de boga. Se estimó el crecimiento para dos supuestos:

A) Dos ciclos de engorde, de 3,5 meses de duración cada uno, de octubre a junio en los que las temperaturas son favorables. Se parte de 30.000 ejemplares de 0,7 kg (P_i) y se obtienen ejemplares de tamaño medio 2,72 kg (P_f). Este peso corresponde a la talla comercial T3, comprendida entre 2.000 y 3.000 gramos. Con una mortalidad media del 20% obtenemos una biomasa final de 130.560 kg.

B) Un ciclo de engorde que comenzaría entre noviembre y diciembre y terminaría entre abril y mayo antes de que las hembras maduren las gónadas (Cerezo Valverde et al., 2007), y se obtendrían ejemplares de 3,65 kg (P_f). Este peso corresponde a la talla comercial T2, comprendida entre 3.000 y 4.000 gramos. Con una mortalidad media del 20% obtenemos una biomasa final de 87.600 kg.

Tabla 1. Inversión en explotación de jaulas con capacidad para 30.000 individuos por ciclo.

Concepto	Unidades	Precio(€)	Parcial (€)	Total (€)
Jaulas en acero inoxidable y flotadores PE HD	150	7.000	1.050.000	
Fondeos en hormigón y anclajes	150	3.000	450.000	
Balizas de señalización y anclajes	4	6.500	26.000	
Contenedores de PVC individuales	30.000	3,50	105.000	
Embarcación 16 m eslora y grúa 2.500 kg	1	250.000	250.000	
Embarcación catamarán 8 m y grúa 1.000 kg	1	125.000	125.000	
Camión basculante con grúa 2.500 kg	1	60.000	60.000	
Furgón caja abierta 1.100 kg	1	18.000	18.000	
Equipamiento auxiliar (cajas plástico, redes...)	1	6.000	6.000	
Edificio multiuso (m ²)	400	200	80.000	
Cámara frigorífica (m ²)	80	400	32.000	
Contenedores plásticos para expedición	6	360	2.160	
Inversión total				2.204.160

Bioeconomía y modelo econométrico.

Para el correspondiente análisis económico se utilizaron varios parámetros e índices empleados en la analítica de costes: El beneficio es obtenido como diferencia entre la corriente de ingresos y gastos, y por tanto, es un beneficio bruto anual antes de impuestos, beneficio/inversión (B/K), beneficio/circulante (B/c), beneficio/coste total (B/C), punto muerto y varios umbrales de rentabilidad (García García et al., 2004). El índice beneficio/coste del circulante es utilizado como

relación entre el beneficio y el capital circulante en cada ciclo anual. El índice beneficio/inmovilizado muestra la relación entre el beneficio y el capital invertido inicialmente o inmovilizado. El beneficio/coste total indica la rentabilidad de la explotación en su conjunto. El coste del inmovilizado se ha calculado a partir de cada uno de los conceptos en que se divide la inversión mediante el cálculo de amortizaciones por el método de cuotas constantes. Este coste lo mostramos en la tabla 2. Los umbrales de rentabilidad utilizados, indican, por un lado, el precio mínimo del kilogramo de producto (UR) y, por otro, la cantidad mínima a producir (PM) para un precio de venta a partir de los cuales la explotación comienza a generar beneficios. Asimismo, calculamos algunos otros umbrales, tales como el coste máximo de la alimentación (UF) o de los juveniles (UJ), compatibles con la viabilidad económica de la explotación.

Tabla 2. Coste de inmovilizado con capacidad para 30.000 individuos.

Concepto	Vida útil (años)	Valor inicial (€)	Valor residual (€)	Amortización (€)	Coste Oportunidad (€)	Total (€)
<i>Jaulas portantes</i>	10	1.050.000	210.000	84.000	1.680	85.680
<i>Fondeos y balizamiento</i>	20	476.000	0	23.800	476	24.276
<i>Contenedores para pulpos</i>	10	105.000	0	10.500	210	10.710
<i>Embarcaciones</i>	20	375.000	93.750	14.063	281	14.344
<i>Vehículos en tierra</i>	10	78.000	15.600	6.240	125	6.365
<i>Equipamiento auxiliar</i>	5	6.000	0	1.200	24	1.224
<i>Infraestructura en tierra</i>	25	112.000	27.200	3.392	68	3.460
<i>Envases de expedición</i>	10	2.160	0	216	4	220
						146.279

Asimismo, se calcularon los índices VAN y TIR, que son índices económicos que caracterizan cualquier proyecto de inversión en el campo agropecuario (Alonso e Iruretagoyena, 1992; Romero, 1985; Muñoz y Rouco, 1997) y acuicultura (García García y García García, 2006) así como en general en actividades diversas (Mao, 1986; Peumans, 1977).

Además se realizó un análisis de sensibilidad que utiliza las siguientes variables: Inversión inicial (K), coste del alimento por Kg producido (CF), coste de juveniles por Kg producido (CJ), otros costes (CO) y precio de venta (SP), para construir un modelo matemático de VAN y TIR. Para esto se calculan 243 alternativas, es decir, 3⁵ posibles alternativas mediante el uso de las correspondientes hojas de cálculo. Los márgenes para las variables del modelo se han ido ajustando para que éste fuera representativo en un alto porcentaje, siempre procurando dar mayor amplitud a las variables más importantes. Los datos así obtenidos se ajustaron mediante el análisis de regresión múltiple a la siguiente ecuación: $Y = a + bK + cCF + dCJ + eCO + fSP$, donde Y es el VAN o el TIR, y a, b, c, d, e y f son coeficientes que determina el análisis de regresión múltiple.

El VAN (Valor Actual Neto) indica la ganancia neta generada por el proyecto. Consiste en restar a la suma, convenientemente homogeneizada, de unidades monetarias que la inversión proporciona al inversor, las unidades monetarias que el inversor ha dado a la misma. Si el pago de inversión no está fraccionado, la suma algebraica anterior para un factor de homogeneización (tipo de interés) será:

$$NPV = \sum_{j=1}^n R_j / (1 + i)^j - K$$

R_j : Flujo de caja originado por la inversión en el año j .

n : Número de años de vida del proyecto.

i : Tipo de capitalización equivalente a interés de productos bancarios de renta fija sin riesgo

i' : Tipo de capitalización corregido por la inflación ($i' = i - q$)

q = Inflación media últimos 10 años

Por esta razón, cuando un proyecto tiene un VAN mayor que cero se dice que, para el tipo de interés elegido, resulta viable desde un punto de vista financiero. Por el contrario, si el VAN es negativo, el proyecto no será viable y quedará inmediatamente descartada su ejecución, pues en tal caso el proyecto proporciona al inversor un número de unidades monetarias menor que las que el inversor proporciona al proyecto. El criterio VAN pues mide la rentabilidad absoluta de una inversión. Si queremos construir otro índice que informe sobre la rentabilidad relativa de la inversión, la forma más sencilla de hacerlo consistirá en dividir el VAN generado por el proyecto por su pago de inversión. Este cociente nos indica la ganancia neta generada por el proyecto por cada unidad monetaria invertida. Este nuevo índice recibe usualmente el nombre de Relación VAN/Inversión (Q), $Q = \text{VAN}/K$.

Con el TIR (Tasa Interna de Rendimiento) planteamos la inversión como si fuese un préstamo que un cierto agente económico (inversor) hace a un ente abstracto (el proyecto), siendo éste de K unidades monetarias (inversión inicial), puede resultar muy útil determinar el tipo de interés que obtiene el prestamista por su préstamo. El TIR constituye una especie de indicador de la eficacia que ha tenido la inversión para el inversor (Romero, 1985). Este tipo de interés λ en caso de que el pago de inversión no estuviese fraccionado, debe satisfacer la siguiente ecuación:

$$K = \sum_{j=1}^n R_j / (1 + \lambda)^j$$

Al utilizar un tipo de interés i corregido por la inflación ($i' = i - q$), al TIR obtenido de la ecuación anterior habría que añadirle q para poder compararlo con el interés de productos alternativos de renta fija sin riesgo (García García, 2001).

La variable Inversión se consideró variable en torno al valor inicial con un incremento de $\pm 35\%$, es decir, está comprendido entre los valores 1.432.704 y 2.975.616 €. En la ecuación del beneficio anual la variable coste del inmovilizado (C_i) es diferente según se trate de 1 ó 2 ciclos de engorde anual y se consideró variable en torno al valor inicial de 1,67 y 1,12 €/kg, respectivamente, con un rango de la variable de $\pm 35\%$. En esta ecuación se establece como variable el coste de inmovilizado y no la inversión por sencillez de manejo. C_i es el coste relativo del inmovilizado (€/kg), es decir, la suma de construcciones e instalaciones, embarcaciones, jaulas, equipamiento y vehículos (tabla 7).

Con el régimen de alimentación de suministrar 3 días boga y 1 día cangrejo el IC es de 2,42 (IC_1) (García García y Cerezo Valverde, 2006). Este índice, no obstante, es en relación a la fracción comestible, por lo que se corrigió teniendo en cuenta que esta representa en la boga el 77% y el 50% del cangrejo (Manzón et al., 2007) y teniendo en cuenta que con este patrón de alimentación la ingesta de fracción comestible es del 54% de boga y del 46% de cangrejo. Así pues

$IC_2=(100/64,58)IC_1=3,75$. Por otro lado, es de esperar que en condiciones industriales de engorde haya una pérdida de alimento consumido que podríamos estimar en el 20%. Por tanto $IC_3=1,2IC_2=4,50$. Por último el índice de conversión se ve también afectado por la mortalidad. García García et al. (2009) también desarrollaron una ecuación para estimar la mortalidad y según la cual en las condiciones establecidas en este trabajos sería de aproximadamente el 20% en las dos situaciones que se analizan. No obstante, en otros ensayos de engorde tanto en tanques como en jaulas los resultados de mortalidad son muy variables por lo que se han hecho los cálculos para supervivencias del 60 al 100%. Así, para cada valor de supervivencia se ha calculado el índice de conversión mediante la siguiente fórmula:

$$IC_4 = (AV+AM)/BP$$

donde AV es el pienso consumido por los supervivientes (IC_3); AM el pienso consumido por las bajas suponiéndoles la mitad del peso de todo el ciclo; BP la biomasa producida.

En base a precios locales en el área del Mediterráneo español, se puede establecer un precio de 0,2 €/kg de boga (P_b) y de 0,7 €/kg (P_c). Para este patrón de alimentación el suministro de boga y cangrejo con ejemplares completos es del 43% de boga (S_b) y del 57% de cangrejo (S_c). Por tanto, el coste de producción del alimento lo podemos calcular como: C_P (€/kg) = $IC_4(S_bP_b+S_cP_c)$, para cada valor de supervivencia. En la Tabla 3 se muestra el efecto de la supervivencia sobre el índice de conversión y sobre el coste de la alimentación por Kg. de pulpo.

Tabla 3. Índice de conversión y coste del alimento por kg producido (C_F) en función de la supervivencia (%)

Supervivencia	100	90	80	70	60
CI_1	2,42				
CI_2	3,75				
CI_3	4,50				
CI_4	4,50	4,75	5,06	5,46	6,00
C_P (€/kg)	1,92	2,03	2,16	2,33	2,56

El coste de juveniles por Kg. producido de pulpo (C_J) también varía en función de cual sea la supervivencia. Por ello, también se ha calculado como repercute la supervivencia sobre este coste (Tabla 4). Se considera un peso medio inicial (P_j) de 700 gramos/individuo con un precio de 4,50 €/Kg. tras haber consultado precios de mercado a varios pescadores de la zona. El número de juveniles (N_j) se calcula como $N_j=(P_j/P_f)+(P_j/P_f)(100-S)/100$.

La variable otros costes (CO) agrupa al resto de costes de la estructura contable, es decir, mantenimiento, combustible, energía eléctrica, seguros de vehículos, suministros y personal (Tablas 5 y 6). En todos los casos planteamos la hipótesis de financiación propia para así eliminar la distorsión que pudiera generar la introducción de variables en la financiación. No consideramos el coste de un seguro sobre la producción puesto que no existe ningún tipo de seguro específico para esta especie. A esta variable (CO) que agrupa varias costes le damos una variabilidad del $\pm 40\%$ sobre la alternativa inicial, es decir, 1,26 y 1,22 €/kg para 1 ciclo o 2 ciclos, respectivamente.

Tabla 4. Peso inicial de juveniles por kg producido (P_j/kg) y coste de juveniles (C_j) en función de la supervivencia (%)

	100	90	80	70	60
1 ciclo/año					
P _j /kg	0,19	0,21	0,24	0,27	0,32
C _j (€/kg)	0,86	0,96	1,08	1,23	1,44
2 ciclos/año					
P _j /kg	0,26	0,29	0,32	0,37	0,43
C _j (€/kg)	1,16	1,29	1,45	1,65	1,93

Peso medio final 1 ciclo/año: 3,65 Kg.

Peso medio final 2 ciclos/año: 2,72 Kg.

Tabla 5. Estructura contable para una capacidad productiva de 30.000 individuos expresada en términos absolutos y relativos. 1 ciclo de engorde al año

	Coste absoluto (€)	Coste relativo (%)	Coste relativo (€ kg ⁻¹)
Jaulas portantes	85.680	14,80%	0,98
Fondeos y balizamiento	24.276	4,19%	0,28
Contenedores individuales en PVC	10.710	1,85%	0,12
Embarcaciones	14.344	2,48%	0,16
Vehículos	6.365	1,10%	0,07
Equipamiento auxiliar	1.224	0,21%	0,01
Edificio y cámara frigorífica	3.460	0,60%	0,04
Contenedores plásticos para expedición	220	0,04%	0,003
Mantenimiento	17.544	3,03%	0,20
Combustibles	1.797	0,31%	0,02
Energía eléctrica	4.552	0,79%	0,05
Seguros de vehículos y embarcaciones	2.448	0,42%	0,03
Suministros oficina	3.672	0,63%	0,04
Personal	83.033	14,34%	0,95
Juveniles	96.390	16,65%	1,10
Alimentación	223.323	38,57%	2,55
	432.758	100%	6,61

Tabla 6. Estructura contable para una capacidad productiva de 30.000 individuos expresada en términos absolutos y relativos. 2 ciclos de engorde al año

	Coste absoluto (€)	Coste relativo (%)	Coste relativo (€ kg ⁻¹)
Jaulas portantes	85.680	10,23%	0,66
Fondeos y balizamiento	24.276	2,90%	0,19
Contenedores individuales en PVC	10.710	1,28%	0,08
Embarcaciones	14.344	1,71%	0,11
Vehículos	6.365	0,76%	0,05
Equipamiento auxiliar	1.224	0,15%	0,01
Edificio y cámara frigorífica	3.460	0,41%	0,03
Contenedores plásticos para expedición	220	0,03%	0,002
Mantenimiento	17.544	2,09%	0,13
Combustibles	2.515	0,30%	0,02
Energía eléctrica	6.372	0,76%	0,05

Seguros de vehículos y embarcaciones	2.448	0,29%	0,02
Suministros oficina	3.672	0,44%	0,03
Personal	130.622	15,60%	1,00
Juveniles	192.780	23,02%	1,48
Alimentación	335.218	40,03%	2,57
	837.450	100,00%	6,41

Para establecer el precio de venta (SP) en planta se han utilizado los datos registrados para pulpo clasificado por tallas (T6 a T1) en el mercado central de Barcelona (Mercabarna) expuestos en http://www.pesca2.com/informacion/precios_mercabarna.cfm. Se utiliza un precio medio durante el periodo 2007-2010 que está incluido en el rango de precios utilizados en los modelos. Le damos una variabilidad del $\pm 12\%$ sobre la alternativa inicial (8,50 €/kg en talla T2 y 7,20 €/kg en talla T3). Así, las variables utilizadas en el modelo son inversión (K), coste de alimentación (C_F), coste de juveniles (C_J), otros costes (C_O) y precio de venta (SP), como podemos ver en la Tabla 7, todas ellas elegidas por su importancia económica.

Tabla 7. Rango de variables utilizadas en el análisis de sensibilidad y modelo econométrico

	1 Ciclo/año		2 Ciclos/año	
	Valor inicial	Rango de variable	Valor inicial	Rango de variable
K (€)	2.204.160	1.432.704-2.975.616	2.204.160	1.432.704-2.975.616
C_F (€/Kg)	2,12	1,88-2,51	2,12	1,88-2,51
C_J (€/Kg)	1,06	0,85-1,41	1,42	1,13-1,89
C_O (€/Kg)	1,26	0,76-1,77	1,22	0,73-1,71
SP* (€/Kg)	8,50	7,48-9,52	7,20	6,34-8,06

* SP para 1 ciclo/año corresponde a talla T2 (3.000-4.000 gr)
SP para 2 ciclos/año corresponde a talla T3 (2.000-3.000 gr)

Resultados.

Análisis de la estructura contable

La estructura contable se muestra en la Tabla 5 y 6 tanto expresada en términos absolutos como relativos. Todos los costes incluyen el correspondiente coste de oportunidad, calculado como uso alternativo del capital de explotación en cuentas bancarias de ahorro sin riesgo. Para su cálculo se ha estimado un interés del 2% en función del mercado actual de dinero y considerando el efecto de la inflación.

La ecuación resultado del beneficio anual antes de impuestos de la explotación a partir de la contabilidad de costes es pues:

$$B = 1\ 000\ 000 \cdot (PV - C_i - C_F - C_J - C_O)$$

La estructura de costes (tablas 5, 6) nos refleja una actividad intensiva con un inmovilizado relativamente importante, especialmente en el sistema de 1 ciclo por año, que infrutiliza la inversión y esto determina que el inmovilizado alcance el 25% del coste de producción. Los costes más elevados y, por tanto, con más importancia económica son la alimentación (38,57% y 40,03%, respectivamente), el inmovilizado (25,26% y 17,47%, respectivamente), los juveniles (16,65% y 23,02%, respectivamente) y en cuarto lugar los costes salariales (14,34% y 15,60%,

respectivamente). En la tabla 8 se muestra un análisis de costes utilizando los valores medios de las variables consideradas y el precio medio de venta de pulpo de los últimos años. Este análisis nos indica una actividad rentable en ambos casos pero con rentabilidad relativamente elevada en el sistema de 1 ciclo (B/C de 28,59% respecto a 12,25%) y mucho más eficaz en el índice B/c (38,26%) que en el B/K (7,51%) debido a que la inversión es también relativamente alta.

Table 8. Análisis de costes calculado con los valores iniciales (valores medios del rango).

	B/K (%)	B/c (%)	B/C (%)	UR (€ Kg ⁻¹)	PM (kg year ⁻¹)	UF (€ Kg ⁻¹)	UJ (€ Kg ⁻¹)
1 Ciclo	7,51%	38,26%	28,59%	6,61	68.122	4,35	2,93
2 Ciclos	4,65%	14,84%	12,25%	6,41	116.313	3,29	2,22

Modelo econométrico

Las ecuaciones obtenidas para las variables VAN y TIR son las siguientes:

1 ciclo por año

Ecuación 1: $VAN = -489.088 - 1,45K - 1.439.823C_F - 1.477.890C_J - 1.460.627C_O + 1.432.386SP$

($P < 0,0001$; Error de la estimación = 83.922; $R^2_{adj.} = 0,9976$)

Ecuación 2: $TIR = 0,1328 - 7,82 \cdot 10^{-8}K - 0,0416C_F - 0,0437C_J - 0,0427C_O + 0,0412SP$

($P < 0,0001$; Error de la estimación = 0,0111; $R^2_{adj.} = 0,9709$)

2 ciclos por año

Ecuación 3: $VAN = -404.431 - 1,46K - 2.118.410C_F - 2.121.221C_J - 2.144.755C_O + 2.129.223SP$

($P < 0,0001$; Error de la estimación = 50.151; $R^2_{adj.} = 0,9994$)

Ecuación 4: $TIR = 0,0952 - 6,95 \cdot 10^{-8}K - 0,0586C_F - 0,0588C_J - 0,0588C_O + 0,0613SP$

($P < 0,0001$; Error de la estimación = 0,0171; $R^2_{adj.} = 0,9436$)

Las ecuaciones son significativas ($P < 0,01$) y explican un 99% y 97% de la variabilidad del VAN y el TIR, respectivamente. Todos los coeficientes en ambas ecuaciones son significativamente distintos de 0 ($P < 0,01$). Desde un punto de vista económico las ecuaciones son también válidas en cuanto el signo de los coeficientes es el correcto.

Discusión.

En primer lugar debemos destacar que esta actividad presenta una inversión y consecuentemente un coste inmovilizado elevado frente a otros engordes en el ámbito de la acuicultura marina. Esto se acentúa en la opción de 1 engorde al año puesto que infrutiliza la inversión y esto determina que el inmovilizado alcance el 25,26% del coste de producción. Estos valores son muy superiores al engorde de peces en jaulas en el mediterráneo tan extendidos como dorada o lubina. Así por ejemplo, Merinero et al. (2005) establece que el coste de amortización en engorde de dorada en jaulas varía entre el 5,52% y el 7,68% del coste de producción, según la capacidad de producción sea de 2500 Tn o de 500 Tn al año. Estos valores confirman la existencia

clara de economías de escala en el cultivo de peces en mar abierto (Gasca-Leyva et al., 2002; Merinero et al., 2005; García García et al., 2005). Sólo actividades de engorde en tierra alcanzan inmovilizados más elevados pero sin llegar al nivel de explotaciones de pulpo, que en la actualidad sólo se han cultivado en jaulas algo más complejas y caras que las convencionales de peces. Este puede ser el caso del lenguado que presenta inmovilizados del 11,23% o 8,26% para producciones de 100 ó 200 toneladas anuales, respectivamente (García García y García García, 2006). El indicador inversión por tonelada de capacidad de producción es muy revelador de la importancia relativa de la inversión en cada sistema productivo. Podemos ver en la tabla 9 el nivel de inversión en dorada y en pulpo para diferentes autores. Como vemos este nivel es muy superior en el cultivo de pulpo, sobre todo por el elevado valor de las jaulas y sus anclajes en relación al cultivo de dorada.

Tabla 9. Inversión e inversión/producción (P/K₀) según especie, sistema de cultivo y capacidad de producción.

	Dorada	Dorada	Octopus vulgaris	Octopus vulgaris
Sistema	Jaulas PE	Jaulas PE	Jaulas acero inox.	Jaulas acero inox.
Producción (Tn) (P)	600	600	45	131
Inversión (€) (K ₀)	1.141.923	1.214.076	611.773	2.204.160
P/K ₀ (€/Tn)	1.903	2.023	13.595	16.826
Referencia	Gasca-Leyva et al. (2002)	García-García et al. (2005)	García-García et al. (2004)	Este trabajo (2010)

Los costes más elevados y, por tanto, con más importancia económica son en orden de magnitud la alimentación, el inmovilizado, los juveniles y en cuarto lugar los costes salariales. A diferencia con el engorde de peces en jaulas el coste de juveniles pasa a tercera posición y tiene una importancia relativa menor. Así, en dorada Merinero et al. (2005) calcula costes relativos que alcanzan el 27% o en sargo picudo García García y García García (2010) establecen un coste relativo del 25%.

El análisis de costes (tabla 8) nos muestra una actividad rentable con rentabilidad relativamente alta en el caso del sistema de engorde con un solo ciclo anual (B/C = 28,59%), mucho más eficaz en cuanto al índice B/c que respecto al B/K, debido a que la inversión es elevada en ambos casos. Por su parte, el punto muerto nos indica que esta actividad sólo sería viable a partir de precios de venta de 6,61 y 6,41 €/kg, respectivamente. Como vemos son valores muy cercanos pero es importante destacar que el sistema B (1 ciclo) alcanza talla comercial T2 con un precio de mercado sensiblemente superior al sistema A (2 ciclos) que alcanza una talla menor. Además, el sistema B es viable a partir de una capacidad de producción de solo 68 toneladas frente al sistema A que necesitaría una capacidad mucho más elevada (116 toneladas).

Por su parte, en el sistema B el umbral de alimentación nos indica que la actividad es viable hasta costes de 4,35 €/kg, cifra muy superior al valor medio de la variable (2,12) y fuera del rango del análisis de sensibilidad (tabla 7). Esto es más acusado aún en el caso del coste de juveniles, donde el umbral es 2,93 €/kg, casi el triple que valor medio de la variable (1,06). El sistema A presenta en ambas variables un menor umbral y, por tanto, tiene una menor maniobrabilidad de alimentación y juveniles compatible con la viabilidad. Esto nos verifica una gran sensibilidad de la viabilidad económica respecto a la alimentación, mientras que el coste del alevín no es tan limitante.

El uso del modelo lo iniciamos calculando los indicadores VAN y TIR de cada sistema con las variables iniciales utilizadas en el análisis de sensibilidad (tabla 7). El modelo verifica que el sistema B presenta un mayor VAN (3.013.569 €) y TIR (12,27%) que el sistema A con un VAN (2.396.708 €) y TIR (10,39%). En ambos casos el engorde de pulpo es viable y rentable desde una óptica económica y el sistema de un ciclo anual (A) es más favorable.

Bibliografía

- Aguado Giménez, F., García García, B., 2003. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier 1797: influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquatic International* 10, 361-377.
- Alcaide Inchausti, A. 2001. Aplicaciones econométricas. U.N.E.D., Madrid.
- Alonso, R.; Iruretagoyena, M.T. 1992. Evaluación financiera de inversiones agrarias: Conceptos básicos y casos prácticos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- Cerezo Valverde, J., Hernández, M.D., García-García, B. 2007. Estado de madurez sexual del pulpo de roca (*Octopus vulgaris*) cultivado en jaulas en mar abierto en el Mediterráneo occidental. XI Congreso Nacional de Acuicultura, Vigo, 24 a 28 de Septiembre de 2007.
- Cerezo Valverde, J., Hernández, M.D., Aguado-Giménez, F., García García, B., 2008. Growth, feed efficiency and conditions of common Octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275, 266-273.
- Chapela, A., González, A.F., Dawe, E.G., Rocha, F., Guerra, A., 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Sci. Mar.* 70, 121-129.
- García García, B., Cerezo, J., 2004., Influencia del número de días de ayuno a la semana sobre el crecimiento, el índice de conversión y la supervivencia en el pulpo de roca (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797). *Revista AquaTic*, no 21, Julio-Diciembre 2004. (Disponible en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=177>).
- García García, B., Cerezo Valverde, J., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. *Aquaculture* 253: 502-511.
- García García, B., Cerezo Valverde, J., Aguado, F., García García, J., Hernández, M.D., 2009. Growth and mortality of common octopus *Octopus vulgaris* reared at different stocking densities in Mediterranean offshore cages. *Aquaculture Research* 40:1202–1212.
- García García, J. 2001., Análisis económico financiero comparado de dos sistemas de engorde de dorada (*Sparus aurata* L.) en el litoral de la Región de Murcia. Doctoral Thesis. Universidad de Murcia.
- García García, J., García García, B., 2006. An econometric viability model for on-growing sole (*Solea senegalensis*) in tanks using pumped well sea water. *Span. J. Agric. Res.* 4(4): 304-315.
- García García, J., García García, B., 2010. Econometric model of viability/profitability of on-growing sharp snout sea bream (*Diplodus puntazzo*) in sea cages. *Aquaculture International*, DOI 10.1007/s10499-009-9311-1.

- García García, J., Rodríguez González, L.M., García García, B., 2004. Cost analysis of octopus ongrowing installation in Galicia. *Span. J. Agric. Res.* 2(4):531-537.
- García García, J., Rouco Yáñez, A., García García, B., 2005. Economías de escala en las explotaciones de engorde de dorada (*Sparus aurata*) en jaulas flotantes en el Mediterráneo. *Anales de Veterinaria* 21:69-76.
- Gasca-Leyva E, León C, Hernández JM, Vergara JM., 2002. Bioeconomic analysis of production location of sea bream (*Sparus aurata*) cultivation. *Aquaculture* 213:219–232.
- Greene WH, 1998. Análisis econométrico. Prentice Hall, Madrid.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris*) en el Instituto Español de Oceanografía. En: Costa, J., Abellán, E., García García, B., Ortega, A., Zamora, S. (Eds.), *Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura*, Cartagena 911 de Julio de 1997. MAPA, pp. 221-226.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the Octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using Artemia and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac. Int.* 12, 481-487.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Bersano, J.G.F., Carrasco, J.F., Dhont, J., Fuentes, L., Linares, F., Muñoz, J.L., Okumura, S., Roo, F.J., van der Meeren, T., Vidal, E.A.G., Villanueva, R., 2007. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: presents status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266, 1-15.
- Lee, P.G., Forsythe, J.W., DiMarco, F.P., DeRusha, R.H., Hanlon, R.T., 1991. Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bull. Mar. Sci.* 49, 362-372.
- Mao, J.C.T. 1986. Análisis financiero. El Ateneo, Buenos Aires.
- Mangold, K.M., 1983. *Octopus vulgaris*. In: Boyle, P.R. (Ed.), *Cephalopod Life Cycles*, vol. 1. Academic Press, London, pp. 335-364.
- Mangold, K.M., von Bolezky, S.V., 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.* 19, 7-12.
- Manzón, M.J., Piedecausa, M.A., Hernández, M.D., García García, B., 2007. Evaluation of environmental nitrogen and phosphorus contributions as a result of intensive ongrowing of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 266: 226-235.
- Merinero S, Martínez S, Tomás A, Jover M. 2005. Análisis económico de alternativas de producción de dorada en jaulas marinas en el litoral Mediterráneo español. *AquaTIC*, 23, 1-19. Available at: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=188>
- Miliou, J., Fintikaki, M., Kountouris, T., Verriopoulos, G., 2005. Combined effects of temperature and body weight on growth and protein utilization of the common octopus, *Octopus vulgaris*. *Aquaculture* 249, 245-256.
- Muñoz, A.; Rouco Yáñez, A. 1997. Análisis económico-financiero de explotaciones de ganado porcino. Monografía PORCI nº 39. Ed. Luzán 5 S.A.
- Peumans, H. 1977. Valoración de proyectos de inversión. Deusto, Bilbao.

- Romero, C. 1985. Normas prácticas para la evaluación financiera de inversiones agrarias. Banco de Crédito Agrícola, Madrid.
- Ruesga, SM., Carbajo, D, Fernández, JM, Lozano, G, Luna, L, Martín, A, Da Silva, J, Somohano, F, Sala, P. 2005. Acuicultura marina mediterránea. FUNDAME, Madrid.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A. 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238, 221-238.

3.4.2. Análisis económico del engorde de pulpo en estanques en tierra.

UPV, C.A. de Valencia.

Introducción

El análisis económico de la producción del pulpo de roca en bateas marinas en Galicia, ha sido evaluado por García-García y col. (2004) en el trabajo “*Estudio Económico de una explotación tipo de engorde de pulpo (Octopus vulgaris) mediante la analítica de costes*” (Revista AquaTIC, 21) y posteriormente en el Capítulo 3.4.1 del presente *Informe Final del Plan Nacional Opti-Pulpo de JACUMAR*. En este último, los autores consideran una producción de 30.000 ejemplares/ciclo y dos ciclos de producción, habiéndose obtenido los resultados que se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de la estructura de costes e ingresos de una batea de pulpo de dos ciclos anuales y 30.000 pulpos/ciclo (García-García y col, 2010)

Concepto	Costes (€)	%
Amortización	146.279	17,47
Juveniles pulpo	192.780	23,02
Alimento natural	335.218	40,03
Personal	130.622	15,60
Generales	32.551	3,89
Total Costes	837.450	100
Total Ingresos	940.032	
Beneficio	102582	
Ratio B/C	12,25 %	

Se observa la moderada rentabilidad de esta producción, debido al elevado coste de la adquisición de los juveniles (4,5 €/kg), por lo que se deduce que la obtención de ejemplares en cautividad es una prioridad, y el alto coste del alimento, (0,485 €/kg), lo que hace que el desarrollo de piensos secos sea otra de las prioridades para mejorar la rentabilidad de la producción del pulpo.

Por ello, el objetivo de este apartado será estudiar una alternativa distinta, la rentabilidad de producir pulpo en estanques en tierra en las condiciones del Mediterráneo.

Material y métodos

Con el objeto de comparar los resultados con los obtenidos en bateas, e considera una producción de dos ciclos anuales con 30.000 juveniles de pulpos iniciales. Los parámetros zootécnicos y económicos son los obtenidos por Alemany (2011) en su trabajo “*Aproximación al engorde industrial del pulpo Octopus*

vulgaris. Primeros resultados en una instalación de tanques con circuito abierto en el Delta del Ebro” (Actas XIII Congreso Nacional de Acuicultura), y que se recogen en la Tabla 2.

Tabla 2. Resumen de resultados zootécnicos del pulpo de roca en estanques de tierra (Alemany, 2011)

Parámetro	Valor
Peso inicial	974 g
Peso final	2747 g
Índice de Conversión	4,22
Supervivencia	77 %
Densidad	20 kg/m ³
Coste juveniles pulpo	3,86 €/kg
Precio alimento	0,66 €/kg

Se ha llevado a cabo un estudio de costes y beneficio de tipo estático, en un año de plena producción, considerando los costes de amortización de la inversión, energía, adquisición de juveniles de pulpo, alimento natural, personal y gastos generales (4%), y el mismo precio de venta de 7,2 €/kg que en el estudio de las bateas.

Resultados

Los costes de inversión estimados y las cuotas anuales de amortización se presentan en la Tabla 3, ascendiendo a 1,4 M€ la inversión y a 72 mil € la amortización anual.

Las necesidades de personal, su salario anual y los costes de personal se recogen en la Tabla 4. Se estima una plantilla de 7 trabajadores y un coste anual de 172 mil €.

Tabla 3. Coste de inversión y cuota anual de amortización de una instalación en estanques en tierra para pulpo considerando dos ciclos anuales y 30.000 pulpos/ciclo

Equipo	Numero unidades	Coste (€/un)	Total (€)	Años Amortizac	Coste Amortiz. (€)
Nave Multiuso (m ²)	4.007	200	801.468	30	26.716
Estanques	3.173	50	158.639	20	7.932
Pozo y bomba sumer.	1	125.000	125.000	20	6.250
Bombas producción	9	9.000	81.000	10	8.100
Tuberías PVC (m)	250	50	12.500	10	1.250
Soplantes	5	1.500	7.500	10	750

Refugios PVC	30.000	4	105.000	10	10.500
Cámara frigoríf. (m ²)	80	400	32.000	10	3.200
Carretilla	1	15.000	15.000	10	1.500
Varios			66905	11	6.082
TOTALES			1.405.013		72.280

Tabla 4. Necesidades y coste de personal para una instalación en estanques en tierra para pulpo considerando dos ciclos anuales y 30.000 pulpos/ciclo

Puesto	Euros/año	Nº	Coste (€)
Director Gerente	59.840	1	59.840
Administrativo	19.947	1	19.947
Jefe Producción	29.920	1	29.920
Alimentadores	14.960	3	44.880
Mantenimiento	17.097	1	17.097
	TOTAL	7	171.684

La estructura de costes se presenta en la Tabla 5, donde puede comprobarse que las principales partidas son la adquisición de juveniles (28%) y la alimentación (29%), seguidas por el personal (21%), siendo el coste de producción total anual de 798 mil €.

Tabla 5. Estructura de costes de una instalación en estanques en tierra para pulpo considerando dos ciclos anuales y 30.000 pulpos/ciclo

Concepto	Costes (€)	%
Amortización	72.280	9,05
Energía	65.758	8,24
Juveniles pulpo	225.578	28,26
Alimento natural	228.143	28,58
Personal	171.684	21,51
Generales	34.884	4,37
TOTAL	798.328	100

Los resultados económicos de rentabilidad (Tabla 6) muestran una ganancia de 0,91 euros por kilogramo de pulpo, y un rentabilidad beneficio/coste del 14%, algo mas alta que en el caso de la producción en bateas, pero baja para ser considerado un negocio de futuro.

Tabla 6. Resultado de rentabilidad de una instalación en estanques en tierra para pulpo considerando dos ciclos anuales y 30.000 pulpos/ciclo

Coste unitario (€/kg)	6,29
Precio Venta (€/kg)	7,20
Ingresos Venta (€)	913.762
Benef. Pulpo (€/kg)	0,91
Beneficio Anual (€)	115.434
Ratio B/C (%)	14,46

Estimando posibles escenarios futuros de mejora se plantean diferentes alternativas considerando:

- una reducción de precio del alimento vivo hasta 0,44 €/kg
- empleo con éxito de alimento seco con un precio de 1 €/kg y un IC = 2
- obtención de juveniles en cautividad a un precio de 2,5 €/kg, además del pienso seco de la alternativa anterior

En la Tabla 7 se presentan los resultados económicos de estas alternativas de mejora, suponiendo una considerable reducción del coste de producción, 5.66, 5.76 y 5.10 €/kg respectivamente, y una mejora de la rentabilidad, 27, 25 y 41 %.

Tabla 7. Resultado de rentabilidad de alternativas de mejora en una instalación en estanques en tierra para pulpo considerando dos ciclos anuales y 30.000 pulpos/ciclo

Alternativas Mejora	A	B	C
Coste unitario (€/kg)	5,66	5,76	5,10
Precio Venta (€/kg)	7,20	7,20	7,20
Ingresos Venta (€)	913.762	913.762	913.762
Benef. Pulpo (€/kg)	1,54	1,44	2,10
Beneficio Anual (€)	195.284	182.968	266.420
Ratio B/C (%)	27,18	25,04	41,16

La alternativa A de rebaja del precio del alimento natural no parece muy realista, pues es habitual que al incrementar la demanda de descartes, aumente también su precio, lo que reduce las posibilidades a la mejora en el nutrición, tanto en la fase de para-larva para conseguir juveniles en cautividad a menor coste (y evidentemente más sostenibles) como en el engorde a base de piensos secos extrusionados, que son los objetivos principales del nuevo proyecto NUTRI-PULPO.

3.5. Atlas histológico comparativo entre individuos sanos y posibles enfermos bajo condiciones de cultivo.

IRTA, C.A. de Cataluña.

Anatomía Normal de *Octopus vulgaris*

En 2008, se obtuvieron los tejidos de machos y hembras de *Octopus vulgaris* para documentar la anatomía normal. Los tejidos se fijaron en Davidson, formol tamponado neutro, y la solución de *Gendre's Fluid*. La mejor fijación se logró utilizando el 10% de formol neutro tamponado o con *Gendre's Fluid*. El protocolo para la fijación de *Gendre's Fluid* se indica a continuación y se describe como el mejor método para la fijación de tejidos de moluscos. Sin embargo, no hemos visto grandes diferencias entre el formol neutro tamponado y *Gendre's Fluid*.

Tissue fixation for Octopus in Gendre's Fluid

3 - 4 days in Gendre's Fluid

15 days in 6% formol

Dehydration in ethanol series and embed in paraffin

Gendre's fluid

Mezclar:

90% ethanol saturated with picric acid 80 ml

40% formaldehyde 15 ml

Glacial acetic acid 5 ml

Se ha establecido el siguiente protocolo para el muestreo animales moribundos que pudiesen aparecer en el transcurso del proyecto.

Muestro de *Octopus vulgaris*

Para la recogida de muestras, los animales moribundos que mueren deben ser refrigerados y NO congelados para conservar la morfología del tejido así como cualquier organismo viable presente. Las muestras recogidas para su análisis deberán introducirse en un tubo de micro centrifuga u otro recipiente apropiado marcado con el número de muestra y la fecha. Para cada una de muestras recogidas se documentará en una hoja de papel aparte además del número de muestra, cualquier cambio importante en el cuidado o el aspecto de las animales como por ejemplo:

- cualquier cambio en la nivel de actividad o color de piel
- la temperatura del agua
- la salinidad del agua
- el oxígeno disuelto
- la hora de la última alimentación
- el tipo de tanque que los acoge y cualquier cambio en el manejo de los animales por sus cuidadores (por ejemplo: cambio en la hora o el tipo de alimentación)

Exámen histológico

Los parásitos o las muestras de tejidos recogidas se colocarán en un recipiente apropiado con una solución de formalina al 10% tamponada a pH neutro. De este modo se puede almacenar para su posterior análisis histológico.

Aislamiento de cultivos de bacterias

Con la excepción de infecciones por *Vibrio spp.* existe poca documentación sobre otras enfermedades bacterianas en *Octopus vulgaris*. Por esta razón, el aislamiento de patógenos bacterianos a partir de pulpos moribundos se centrará principalmente en el aislamiento e identificación de *Vibrio spp.* Se dispone de medio cromogénico selectivo para este género. Los componentes del medio se basan en las características metabólicas diferenciales específicas de los géneros *Vibrio* and *V. vulnificus* (Ref.1, 2, 3). Está disponible un medio comercial que se puede adquirir en CHROMAgar (Catalogue # VB912) <http://www.chromagar.com>. Las placas de petri con el medio preparado pueden ser almacenadas a 4°C durante varias semanas si están protegidas de la luz y la deshidratación. Antes de la inoculación por estría del medio es necesario dejar que las placas se atemperen a la temperatura ambiente.

- Frotar el área de la piel afectada con bastoncillos de algodón estériles o lazo bacteriológico. Sembrar al material recogido en medios selectivos e incubar las placas de agar a 28°C toda la noche. Las colonias crecidas se pueden almacenar en el medio durante varias semanas a 4°C tras envolver las placas con parafilm.
- De forma alternativa, para un almacenaje a corto plazo los bastoncillos de algodón usados pueden colocarse en un tubo estéril y ser refrigerados hasta una inoculación posterior en las siguientes 48 horas.
- Las colonias que crezcan en el medio selectivo se pueden inocular en medio líquido para su crecimiento, y posteriormente se pueden almacenar a -80°C en una mezcla de glicerol al 40%.
- El ADN extraído a partir de las colonias se analizará por PCR para examinar el ADN ribosómico 16S con el fin de su identificación taxonómica.

Análisis del ADN de las muestras de tejidos

El ADN extraído a partir de las muestras de tejidos puede ser analizado por PCR para examinar el ADNr 16S de posibles patógenos bacterianos mediante el uso de los primers EubA (1518R) 5'-AAG-GAG-GTG-ATC-CAN-CCR-CA-3' y EubB (27F) 5'-AGA-GTT-TGA-TCM-TGG-CTC-AG-3'. Si el análisis por microscopía de las secciones de tejidos teñidos sugiere la presencia de un patógeno viral se podrán usar otros primers virales.

1. Extraer una muestra de tejido de menos de 0,5 cm de grosor en al menos una dimensión.
2. Colocar la muestra en una solución de etanol 70% dentro de un tubo de microcentrifuga de 1,5ml marcado apropiadamente.
3. Para su almacenamiento a largo plazo colocar entre 4 y 10°C.

Durante el examen de los cortes de tejidos se encontraron estados de parásitos tipo coccidios en los túbulos del riñón, branquias y el revestimiento del intestino de los dos animales recogidos un año de diferencia. Los parásitos del género *Aggregata* (posiblemente *Aggregata octopiana*) han sido

descritos previamente en el pulpo de la costa atlántica de España (Vigo) y son bastante comunes en los animales cultivados, aunque menos común en los pulpos salvajes (Gestal et al., 2002c; Mladineo et al., 2005). Los hospedadores nativos de este parásito son los crustáceos y la alta prevalencia de este parásito en el cultivo de pulpo se piensa que es un artefacto de la dieta que reciben los animales en cultivo. Parece probable que sirven como hospedadores alternativos en la naturaleza con pocos efectos adversos para su salud. En animales cultivados se han documentado altos niveles de infección en el intestino como síntoma de síndrome de malabsorción debido al desarrollo de un desequilibrio de las enzimas digestivas (Gestal et al., 2002a; Gestal et al., 2002b;). Se ha sugerido que si no se utilizan las medidas de control para limitar el desarrollo de este parásito en los sistemas de cultivo este podría ser un factor limitante para la explotación comercial de la especie (Gestal et al., 2007; Mladineo et al., 2005). En este proyecto no se observaron signos externos de enfermedad en los animales sacrificados para la recolección de tejidos, o un mínimo de respuestas inflamatorias o cambios inmunológicos asociados debido a la presencia de este parásito. Es probable que *O.vulgaris* tolere la presencia de este parásito el encontrarse con frecuencia en la naturaleza. No se han encontrado otros agentes infecciosos en el transcurso del proyecto.

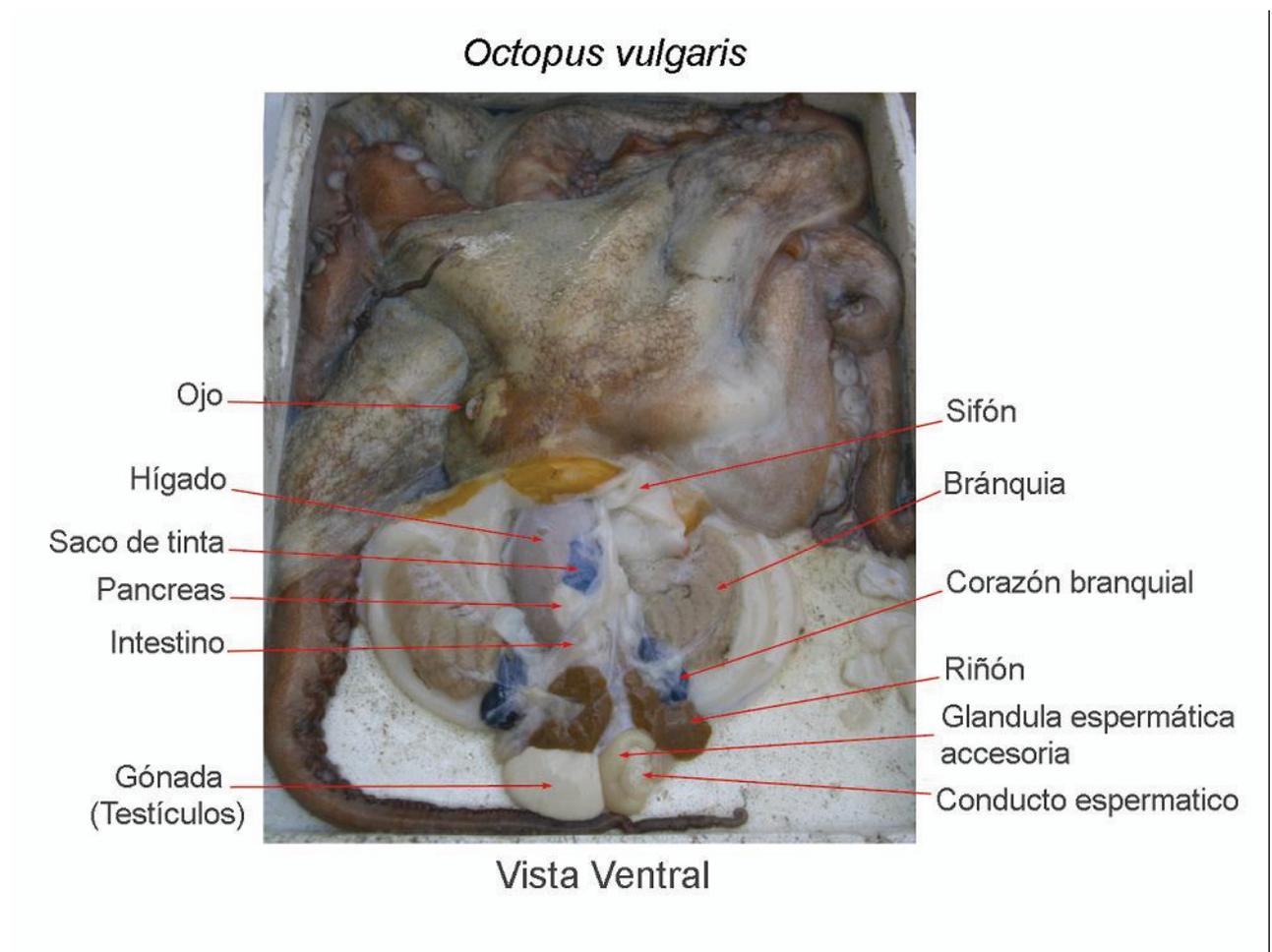


Figura 1. Anatomía general de *Octopus vulgaris* (macho).

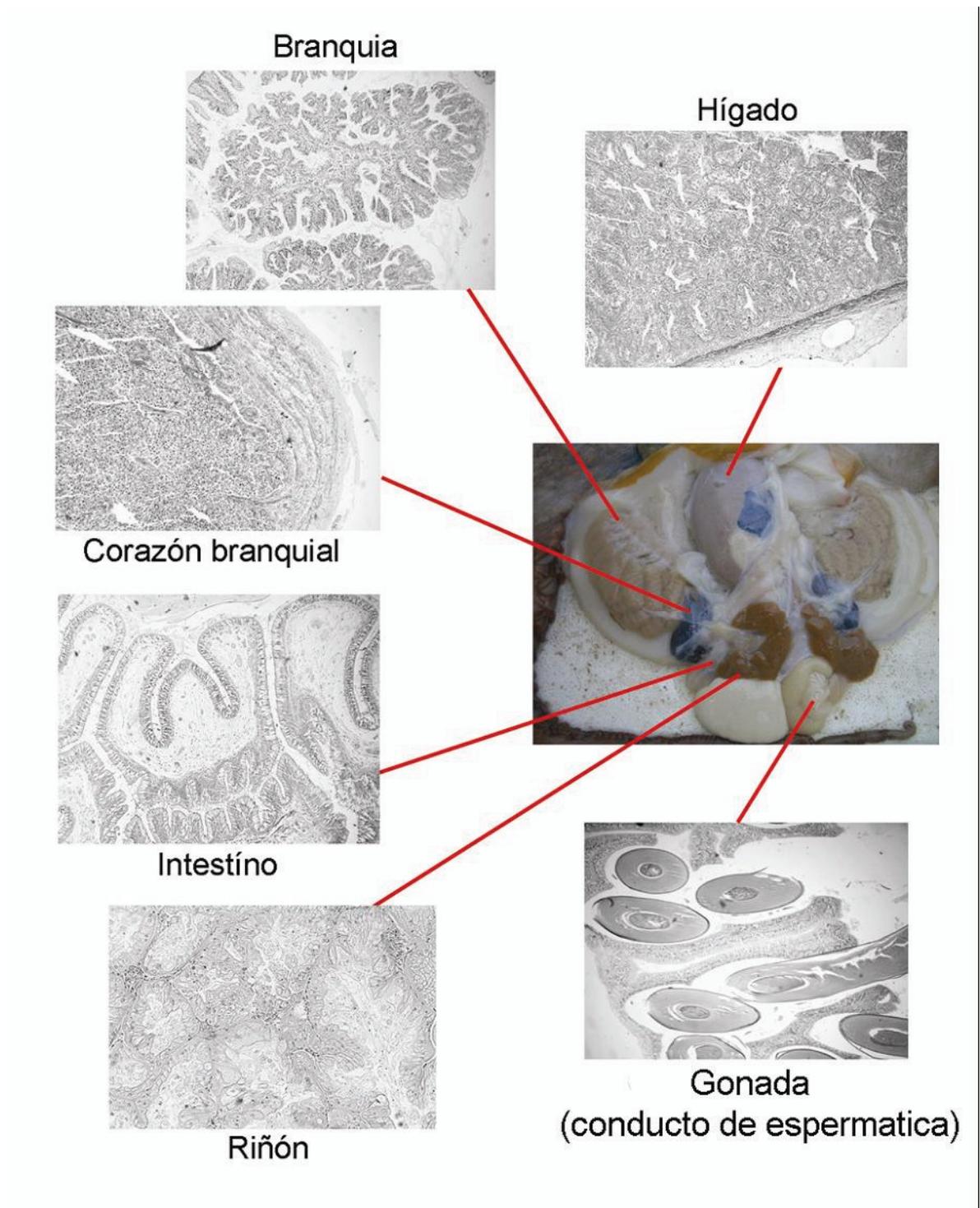


Figura 2. Una guía de vistas de histología (macho).

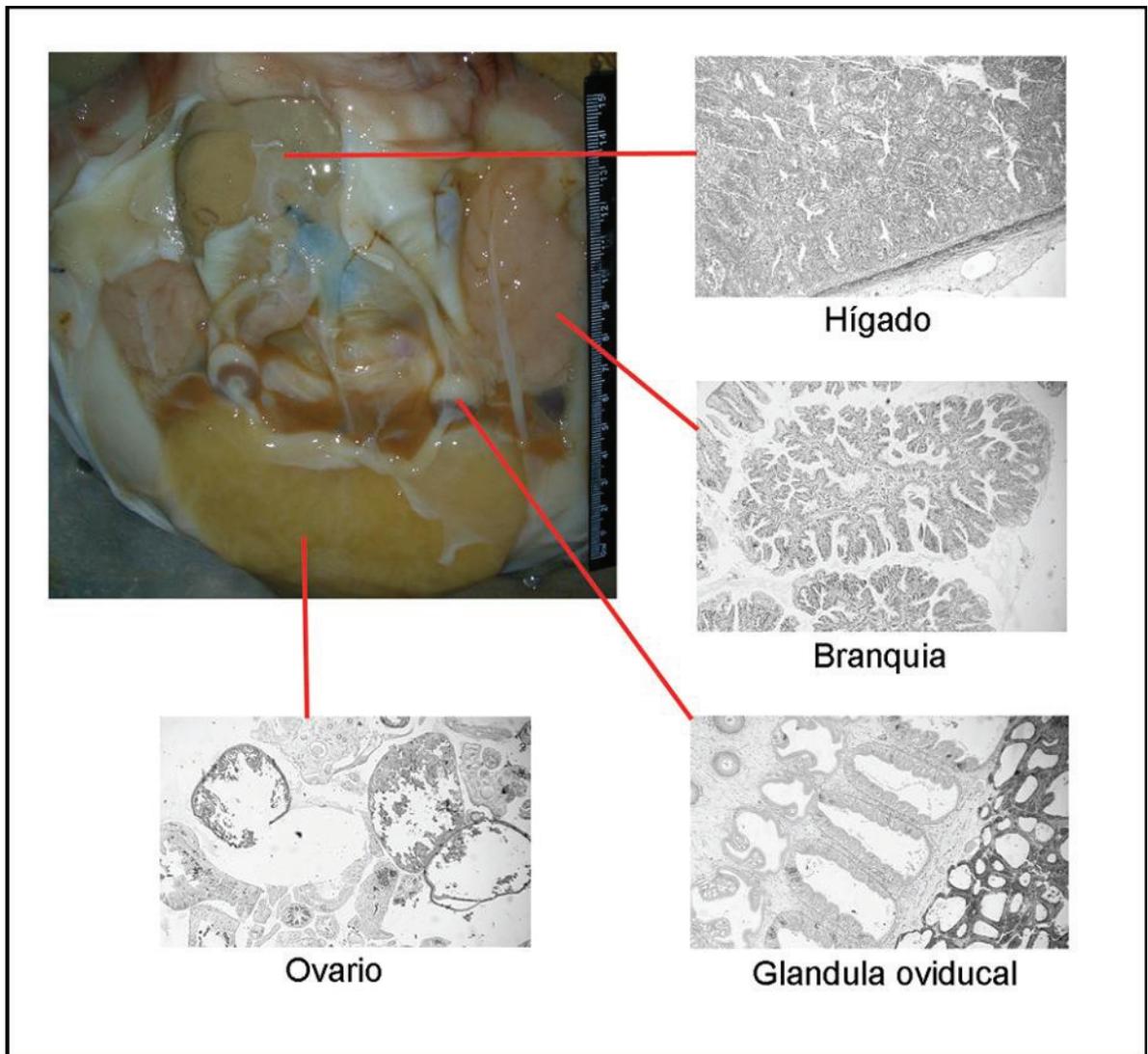


Figura 3. Una guía de vistas de histología (hembra). [Nota: este ejemplo es después congelación; texturas y colores de tejidos no es normal.]

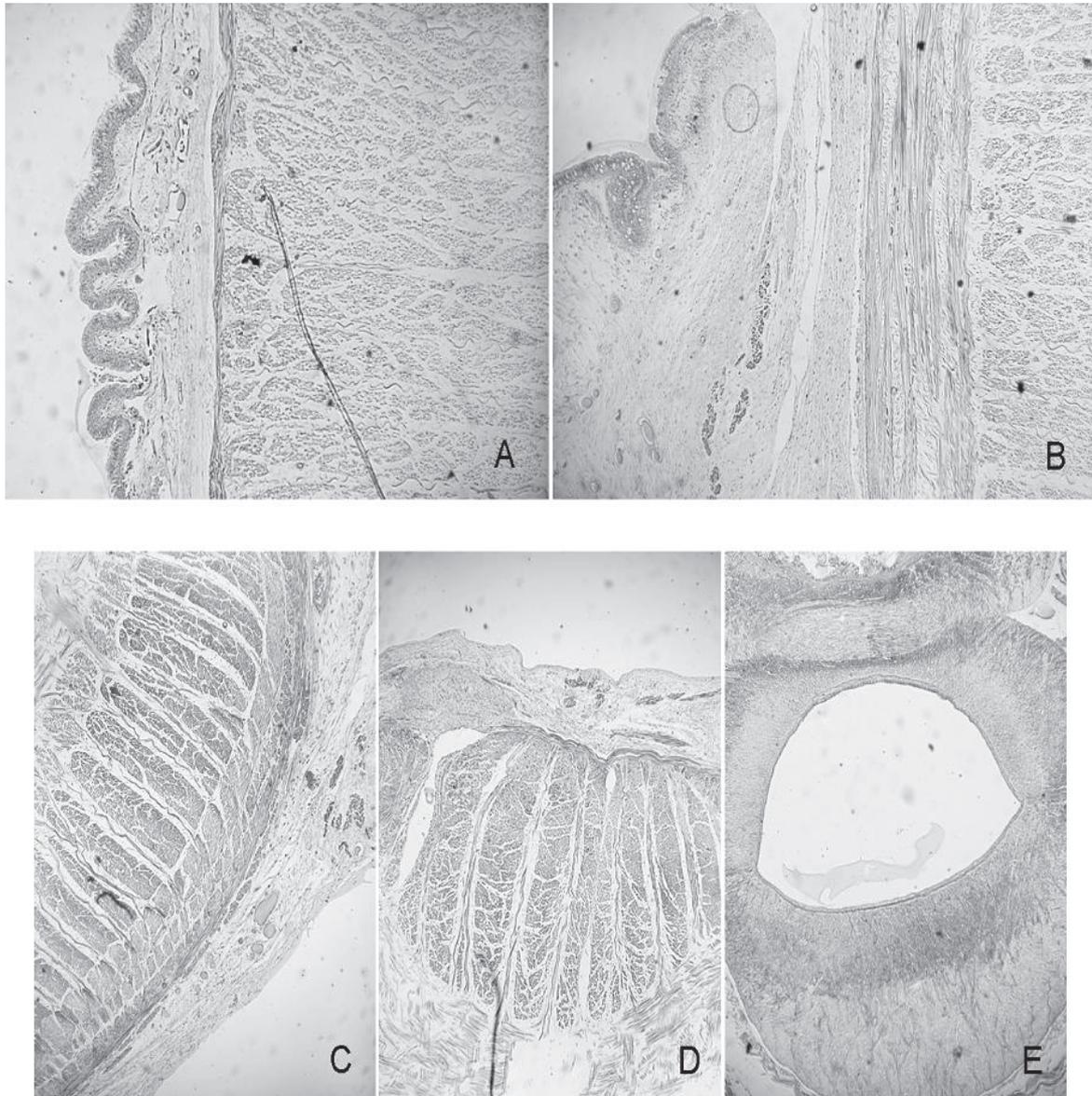


Figura 4. *O. vulgaris*. A y B corte transversal del manto de la cabeza. C - E Secciones de un tentáculo. C. Corte longitudinal de un tentáculo. D. Corte transversal de una ventosa. E. Corte transversal de un tentáculo.

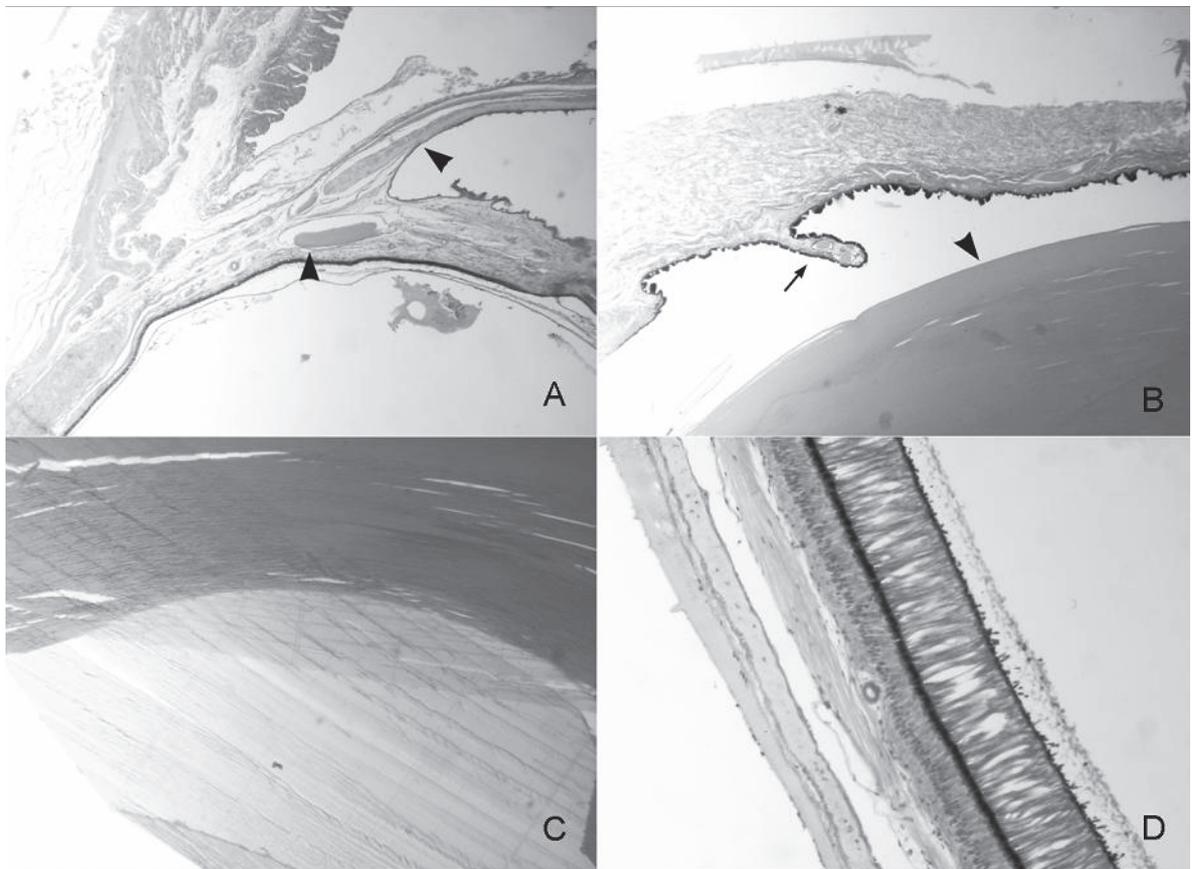


Figura 5. El ojo de *Octopus vulgaris*. A. Corte transversal al lado de la lente. Los triángulos indican los ligamentos de la lente. B. La flecha indica el iris y el triángulo indica la lente. D. Vista de la lente con las tapas del cristalino visible. D. Corte transversal de la retina.

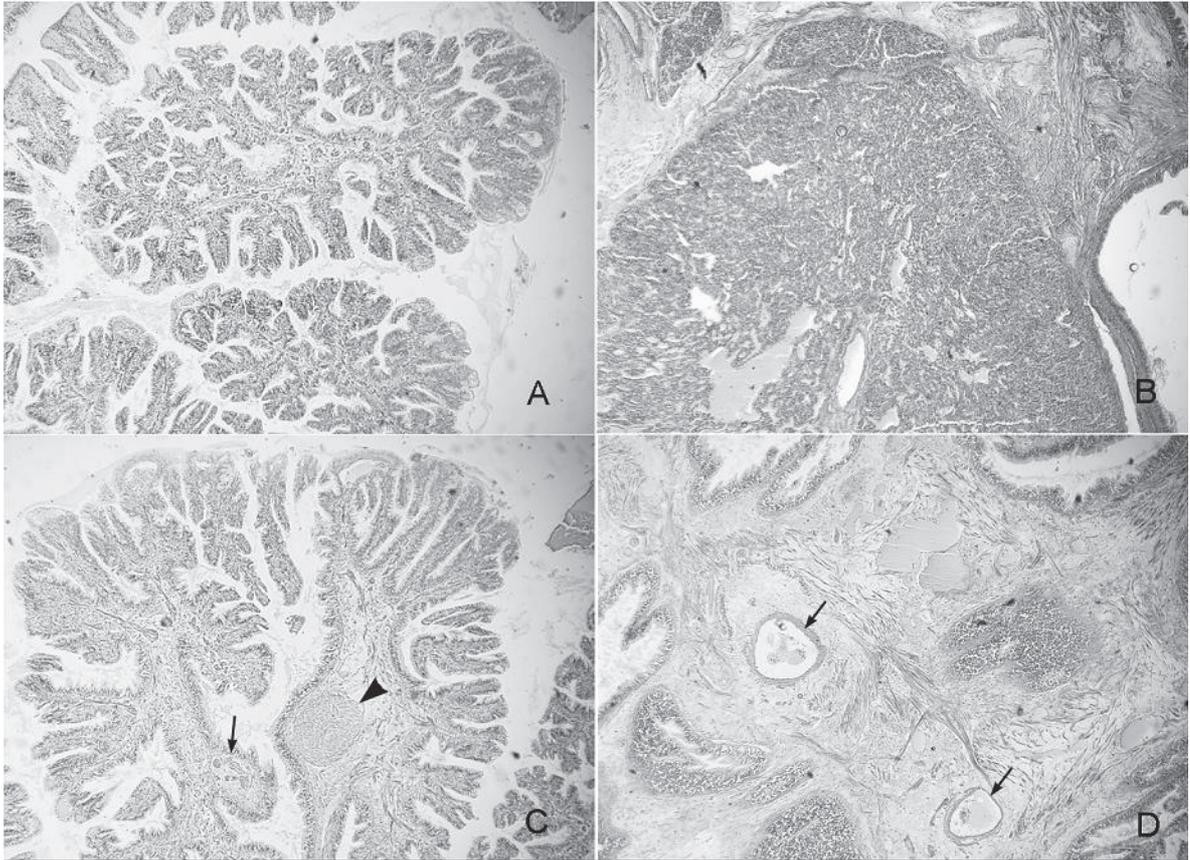


Figura 6. Branquia del *O. vulgaris*. B. Corte transversal del seno branquial. C y D Hay estadios del parásito *Aggregata* spp. Los diferentes estadios se indican con flecha o triángulo.

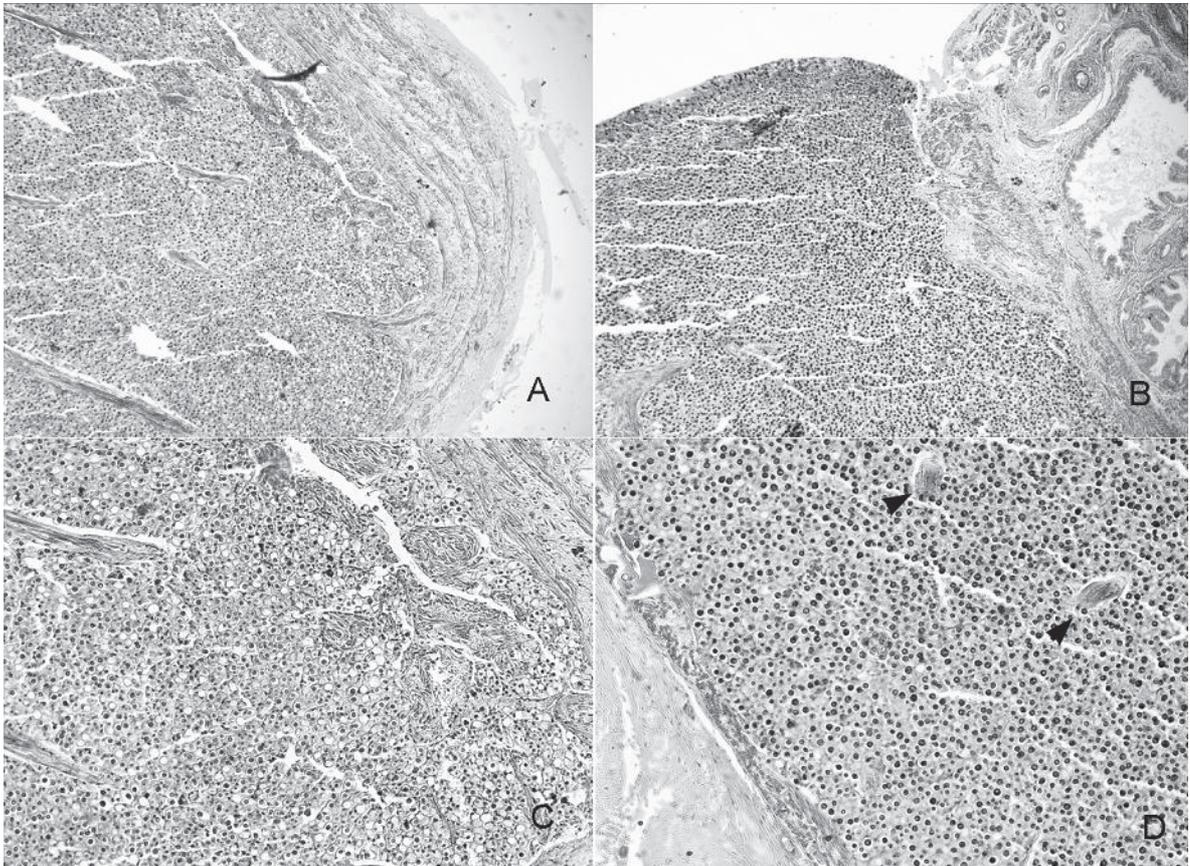


Figura 7. A – D. El corazón branquial de *O. vulgaris*. D. Las flechas indican ligamentos musculares de las válvulas del corazón.

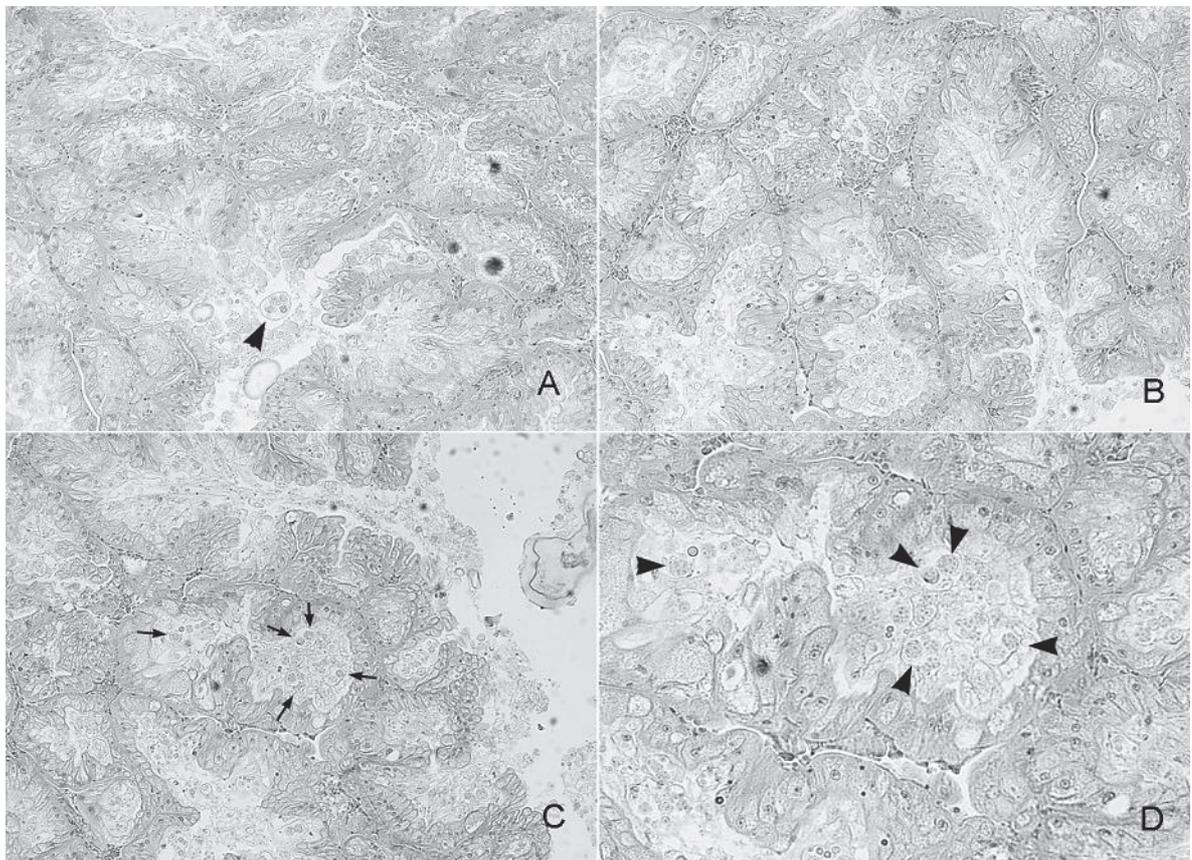


Figura 8. El riñón de *O. vulgaris*. A, C, y D. Esporoquistes de *Aggregata spp.* están señaladas por flechas y triángulos. D. Se amplía la zona señalada con triángulos en la foto C.

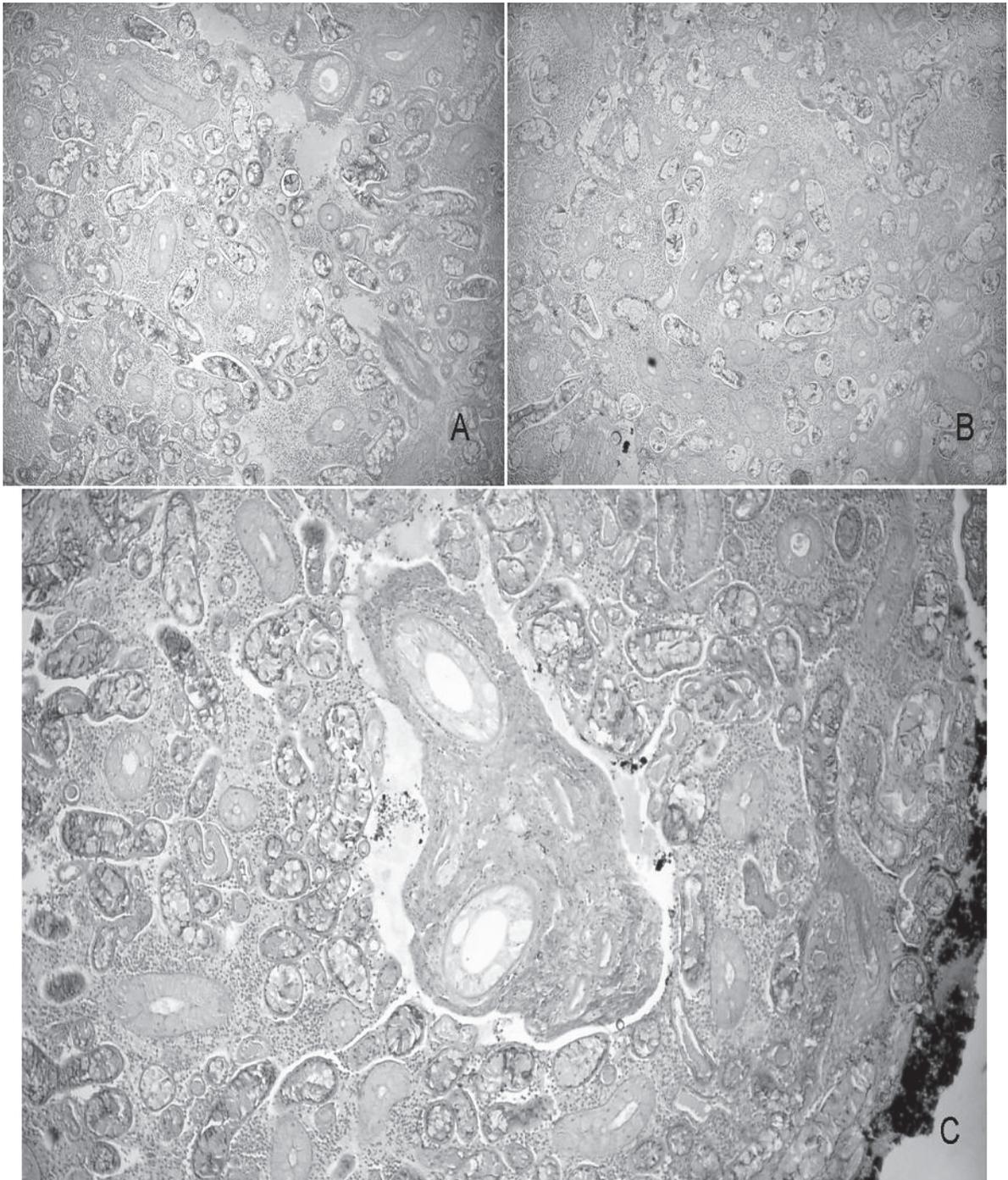


Figura 9. A y B. La glándula salival del *O. vulgaris* C. Se observan grandes conductos secretores.

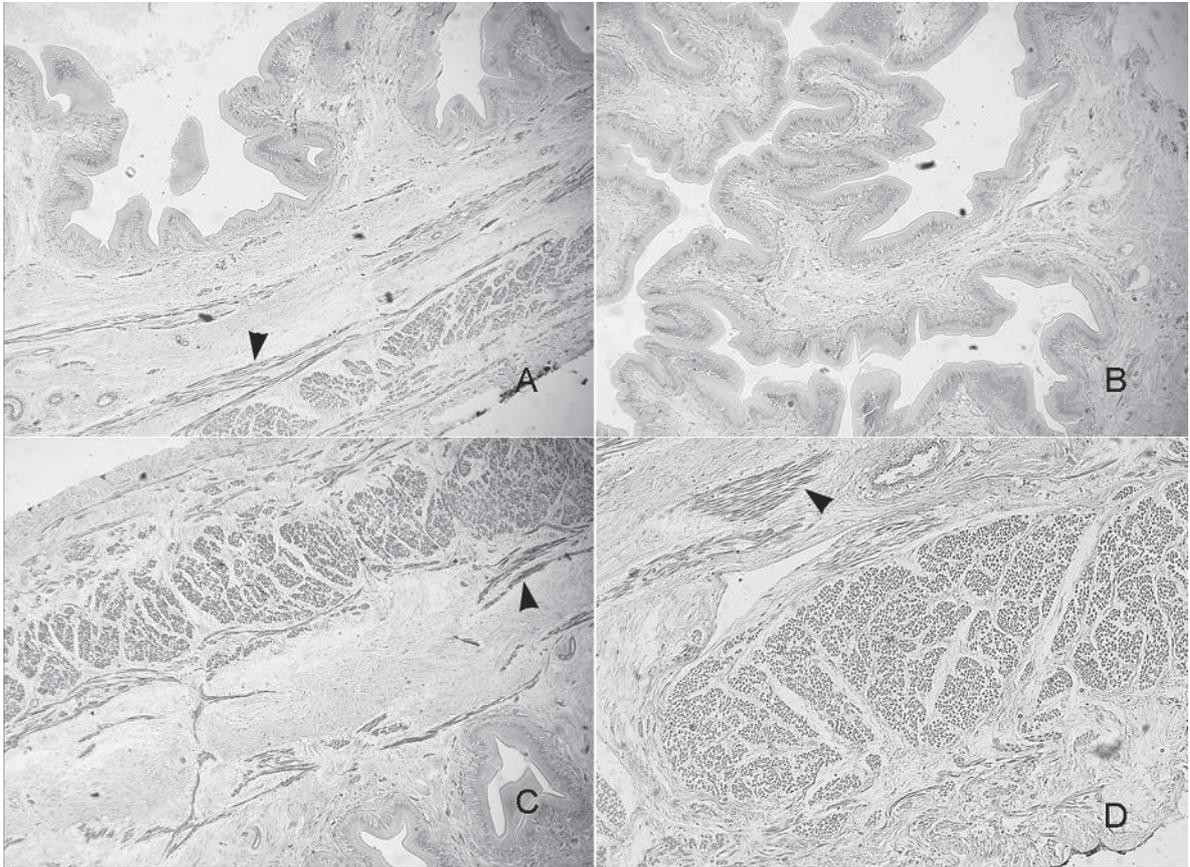


Figura 10. A – D. La molleja de Octopus. B. El lumen de la molleja. Los triángulos indican las fibras del músculo que recubren la pared de la molleja.

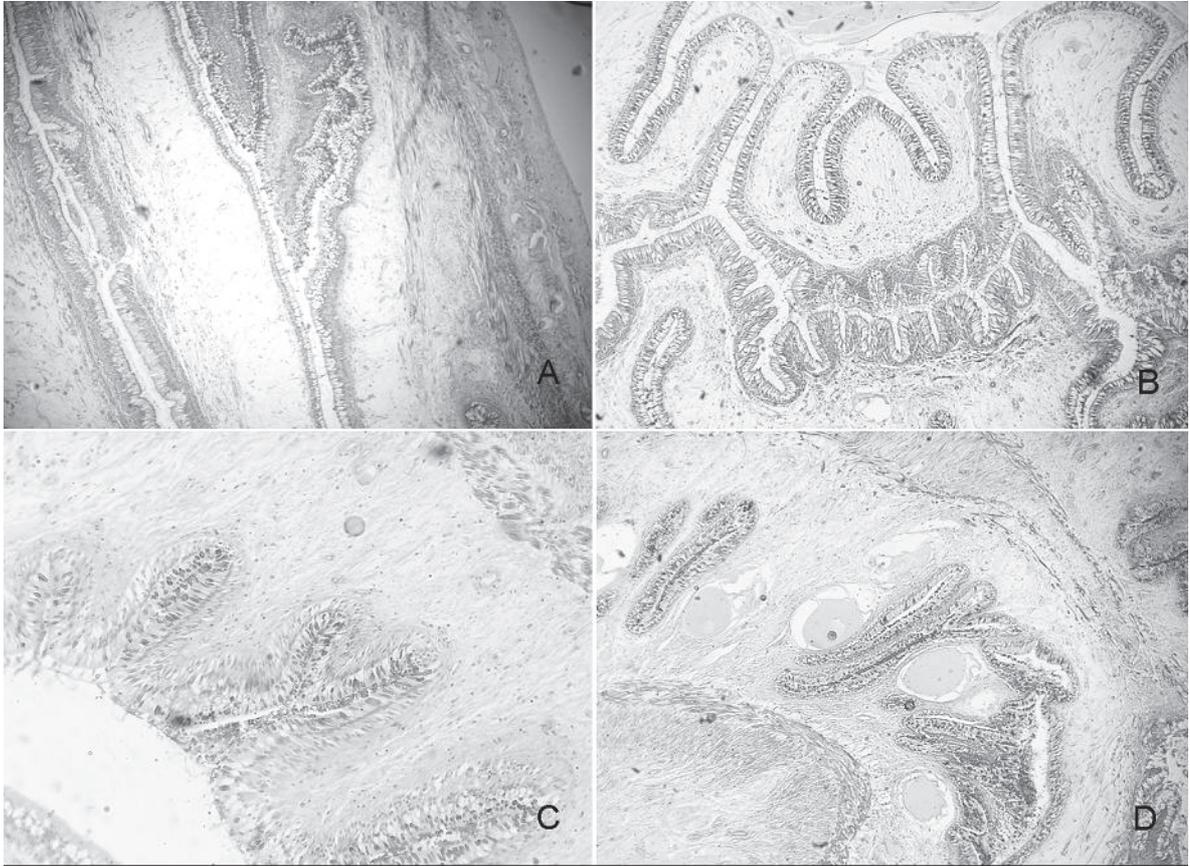


Figura 11. A – D. Cortes transversales a través del intestino de Octopus. A. Intestino superior. B. Intestino inferior. C - D. Aumento elevado de las “criptas”.

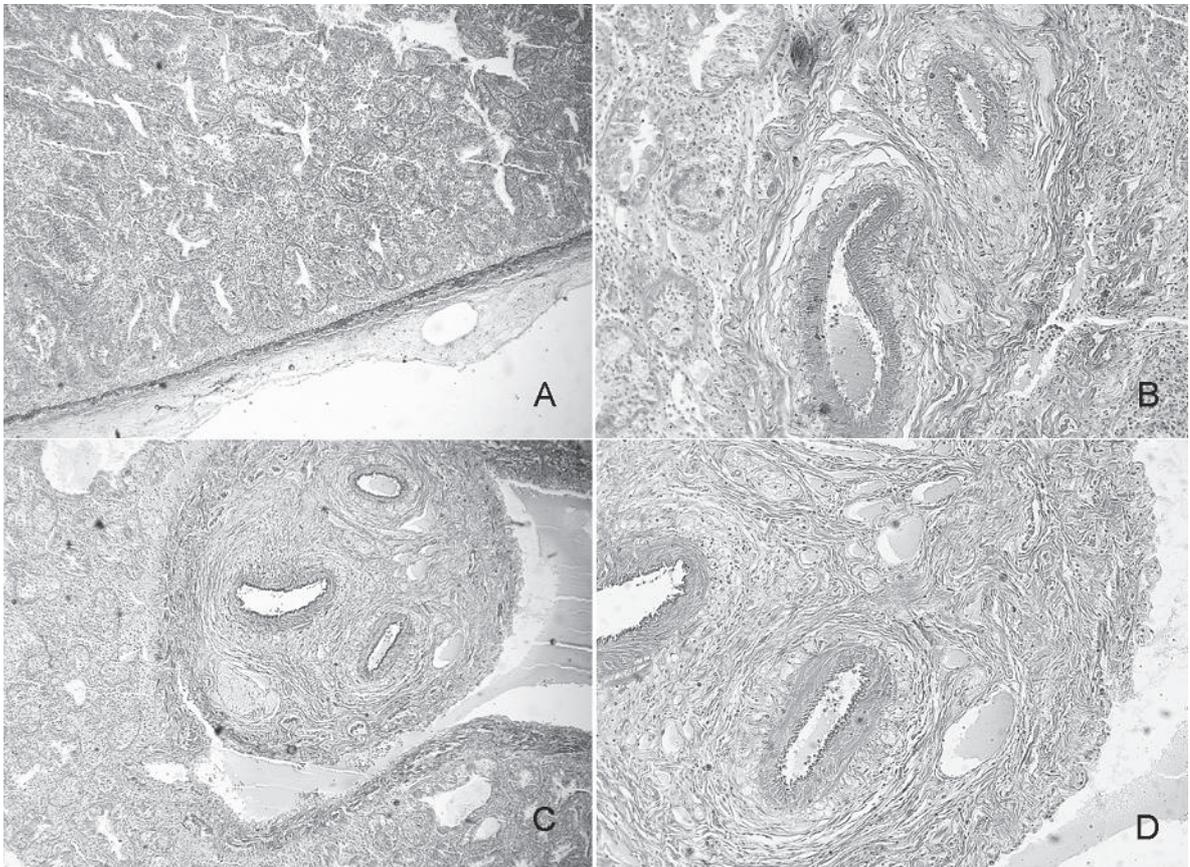


Figura 12. A – D. Hígado del *O. vulgaris* donde se muestran túbulos excretores. D. Aumento elevado de la figura C.

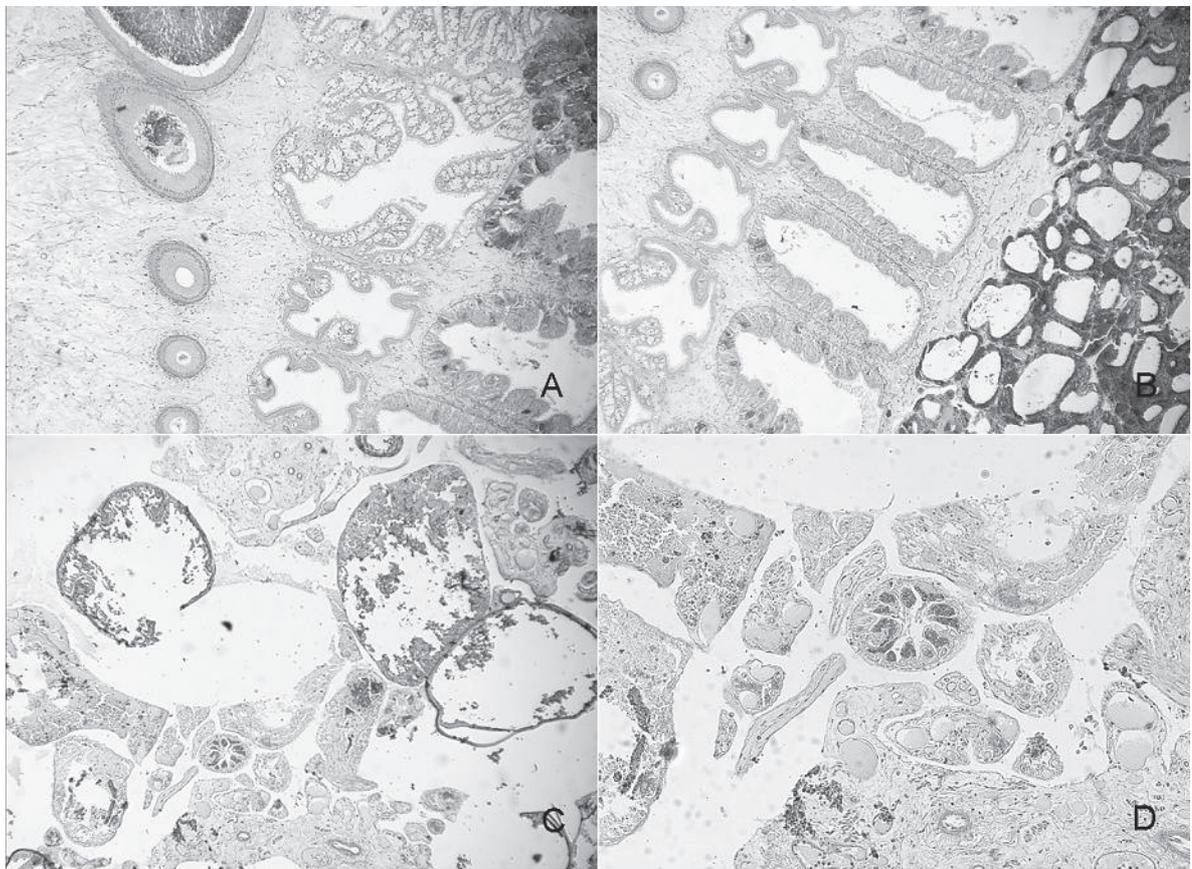


Figura 13. La gónada de hembra de *O. vulgaris*. A. Glándula oviducal. B. Vista a menor aumento. C. Los ovarios con ovocitos. D. Detalle de C.

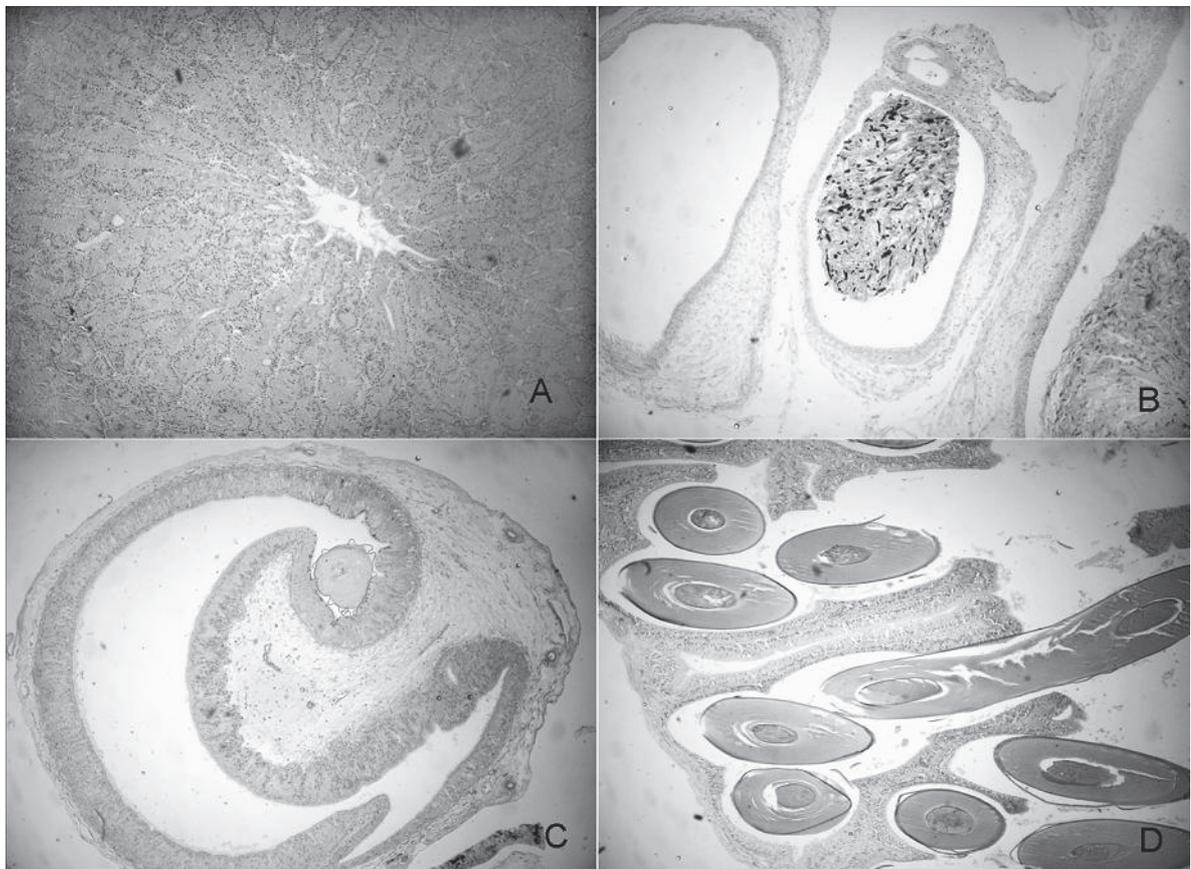


Figura 14. A – D. Gónada de macho de *Octopus*. A. Testículo. B. Corte longitudinal de glándula espermática accesoria. C. Corte transversal de glándula espermática accesoria. D. Conducto de espermático.

Referencias

- Gestal C., Abollo E., Pascual S. (2002a) Observations on associated histopathology with *Aggregata octopiana* infection (Protista: Apicomplexa) in *Octopus vulgaris*. *Dis Aquat Org* Vol. 50: 45–49
- Gestal C., Páez de la Cadena M., Pascual S. (2002b) Malabsorption syndrome observed in the common octopus *Octopus vulgaris* infected with *Aggregata octopiana* (Protista: Apicomplexa) *Dis Aquat Org*. Vol. 51: 61–65
- Gestal C., Guerra A., Pascual S., Azevedo, C. (2002c) On the life cycle of *Aggregata eberthi* and observations on *Aggregata octopiana* (Apicomplexa, Aggregatidae) from Galicia (NE Atlantic). *Eur. J. Protistol.* 37, 427-435.
- Gestal C., Guerra A., Pascual S. (2007) *Aggregata octopiana* (Protista: Apicomplexa): a dangerous pathogen during commercial *Octopus vulgaris* on-growing. *ICES J. Marine Sci.*, 64:1743-1748.
- Mladineo I. and Jozic M. (2005) *Aggregata* infection in the common octopus, *Octopus vulgaris* (Linnaeus, 1758), Cephalopoda: Octopodidae, reared in a flow-through system. *Acta Adriat.* 46 (2): 193-199.

4. Subproyecto 3. “ENGORDE INDUSTRIAL DE PULPO Y SOSTENIBILIDAD DE LA ACTIVIDAD”.

ESM-USC (Galicia)

Introducción.

A la vista de las observaciones realizadas tanto en los ensayos de engorde en Galicia como en el Mediterráneo, las hembras pueden madurar en las jaulas de engorde y poner puestas en los refugios, y si un porcentaje de la explotación se dedicara a esta función se podría contribuir a la repoblación natural de los stocks silvestres de pulpo, y consiguientemente al mantenimiento de las pesquerías locales de esta especie.

A pesar de que se hayan realizado, con muy pobres resultados, algunos ensayos de seguimiento de paralarvas liberadas en la naturaleza, utilizando técnicas de marcado de estatolitos (Fuentes et al., 2000), esta tarea es extremadamente complicada de realizar debido al grado de dispersión de las paralarvas y por la dificultad en identificar el marcado en los individuos adultos. El método alternativo que se planteó como herramienta para establecer la relación entre pulpos salvajes que puedan haber resultado de puestas incubadas en “jaulas maternidad”, es la caracterización genética de poblaciones naturales antes y después de la liberación de las paralarvas. De esta manera, obteniendo el perfil genético de la muestra de hembras reproductoras mantenidas en cautividad y de las puestas de huevos es posible determinar qué proporción de individuos de muestreos posteriores procedentes del medio natural son descendientes de los progenitores mantenidos en cautividad y evaluar la contribución de las “jaulas maternidad” al aumento de la población de pulpos en las pesquerías próximas a las instalaciones de engorde industrial.

Caracterización genética de ejemplares salvajes provenientes de la ría de Vigo y zonas adyacentes de las Cies-Toralla-Cabo Silleiro.

Material y métodos

Al cabo de un año y dos meses de la liberación de alrededor de 2.500.000 de paralarvas al medio natural, procedentes de puestas dejadas en las “jaulas maternidad”, de forma que se garantizase que las hembras terminasen la incubación de los huevos hasta la eclosión de las paralarvas, se muestrearon tejidos de 175 pulpos procedentes de la ría de Vigo y de las zonas de las Cies-Toralla-Cabo Silleiro. Los pulpos fueron capturados en la primera quincena de febrero del 2009, y mantenidos en jaulas de engorde (referencia de jaulas: 1-5, 2-11 y 3-11) hasta los días de muestreo del 18 al 28 de mayo de 2009. Se tomaron muestras de tejido muscular de alrededor de 0,5 g, siendo éstas preservadas en etanol 98%, correspondientes a 84 machos (Peso medio = $2,1 \pm 0,5$ kg) y 91 hembras (Peso medio = $1,8 \pm 0,4$ kg). Una vez en el laboratorio, las muestras fueron almacenadas a -20 °C.

Con el fin de estudiar la evolución de las poblaciones naturales de pulpo y evaluar el impacto de la liberación de paralarvas al medio natural procedentes de las jaulas maternidad se caracterizaron con marcadores microsatélites los individuos adultos capturados en 2007 y en 2009. Para ello, se aisló el ADN total a partir de aprox. 30 mg de muestras de tejido muscular de 96 adultos de 2007 y de 96 adultos de 2009 usando el sistema NucPrep® en un ABI PRISM™ 6100 Nucleic Acid PrepStation (Applied Biosystems).

Se probaron 6 juegos de cebadores microsatélites descritos por Greatorex et al., (2000) marcados con los fluorocromos que se indican en la tabla 1. El locus Ov6 ha sido utilizado para la evaluación de la estructura poblacional de *O. vulgaris* en el Mediterráneo. Para ello se muestrearon 9 poblaciones mediterráneas y una del Atlántico (Vigo) (Casu et al., 2002). Este estudio detecta

diferencias significativas entre las diversas poblaciones analizadas. De forma similar, mediante el análisis de 3 loci microsatélites se ha detectado una significativa estructura genética a los largo de la costa noroeste de África (Murphy et al., 2002).

Tabla 1. Loci microsatélites descritos por Greatedorex et al. (2000) ensayados en este estudio para la caracterización de las poblaciones de *O. vulgaris*.

Locus	Repetición	Tamaño esperado (bp)	Nº alelos esperados	Cebador F	Cebador R	Fluorocromo
mOct3	(AT)16(GT)15	147	12	CTCCCTAGTTTTGAATCACG	GCCACTAATACACTTTTCAAGG	6-FAM
mOct8	(TG)36	160	11	AGGGAGAGAAAATAGAAAAAC	TAAACTGAATAATACATACATACG	HEX
mOv04	(TTA)22	126	14	ATACCAGGCCTTGTGCCTTTAG	CAGCACCGTAATACATCTTCAG	TET
mOv06	(ATT)24	146	17	GGGCCTTATTCTTAAGCAG	CCATTTGCATTTGAATATTTTAAAG	6-FAM
mOv10	(GA)14	122	12	GCAATAAAGGAGAAAACAAAAACA	GCTATTGTACAATAAGGCTCTCC	HEX
mOv12	(GATA)20	176	18	GCATAATGTGCCGCTAAATGGAAC	GCCTCGTCGGTATTTCTCTTTCA	TET

Con objeto de obtener la temperatura de hibridación (T_{an}) óptima para cada par de cebadores se realizaron PCRs en un termociclador GeneAmp 9700 (Applied Biosystem) utilizando un pequeño muestra de individuos y probando diversas combinaciones de temperaturas de hibridación (de 43° a 58°C) y distintas concentraciones de $MgCl_2$ (entre 1.5 y 3.5 mM). También se probó la amplificación con una selección de ADN polimerasas de varios fabricantes, que presentan diferencias en cuanto a sensibilidad y especificidad (*GoTaq*® DNA Polymerase de Promega™, *AmpliTaq* DNA Polymerase y *AmpliTaq Gold*® DNA Polymerase de Applied Biosystems™). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 15 μ l, con tampón proporcionado por el fabricante, 1,5-3,5 mM $MgCl_2$, 0,8 mM dNTPs, 2 pmol de cada cebador, 0.3 U Taq de DNA polimerasa y 2 μ l de ADN. Las condiciones de PCR fueron: un ciclo inicial a 95° durante 3 min, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 30 s, 43-58°C durante 1 min y 72°C durante 1 min y un ciclo final a 72°C de 30 min. Alternativamente se probó un ciclo de temperaturas *touchdown*, es decir, en el que se comienza con una temperatura de hibridación T_{an} que se disminuye 1°C /ciclo en los diez ciclos sucesivos hasta alcanzar una temperatura T_{an} que se mantiene constante en los ciclos restantes [un ciclo inicial a 95° durante 3 min, seguido de 10 ciclos de 95°C durante 30 s, 55° (disminuyendo 1°C en cada ciclo) durante 1 min y 72°C durante 1 min, seguido de 30 ciclos de 95°C durante 30 s, 45°C durante 1 min y 72°C durante 1 min y un ciclo final a 72°C de 30 min]. De esta manera, se logra aumentar la sensibilidad sin perder especificidad. La visualización de los fragmentos se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa al 2%.

Una vez determinadas las condiciones de amplificación idóneas, es decir, aquellas que permitían obtener una banda nítida del tamaño esperado, se procedió al genotipado de la totalidad de la muestra (96 adultos de 2007 y 96 adultos de 2009). Los fragmentos amplificados, junto con un marcador de tamaño GeneScan-350 ROX o TAMRA (Applied Biosystem), fueron visualizados en un secuenciador automático de ADN ABI Prism 377 (Applied Biosystems). Las electroforesis fueron realizadas en geles de poliacrilamida el 5% (AA:BIS = 19:1) en condiciones desnaturizantes a 50°C en tampón TBE (90 mM Tris-borato, 2 mM EDTA pH 8,0 y 7,5 M urea). La detección de alelos y la estimación de tamaños se llevó a cabo con el software GenScan y Genotyper (Applied Biosystems).

Obtenido el genotipo de los individuos, se calcularon las frecuencias alélicas en cada muestra de individuos (2007 y 2009), la heterozigosidad observada y esperada y se realizó un análisis de equilibrio Hardy-Weinberg. Se estudió la distribución de las frecuencias alélicas en ambas muestras y se estimaron los valores del coeficiente de diferenciación genética F_{ST} . Todos los análisis se realizaron con ayuda de Arlequin 3.1 (Excoffier et al., 2005).

Resultados

De los 6 juegos de cebadores descritos (Greatorex et al., 2000), sólo se pudieron ajustar las condiciones de PCR para uno de ellos, $\mu\text{Ov}6$, permitiendo su uso rutinario y su eficaz resolución en la mayoría de las muestras analizadas. En contraste, en el resto de juegos no fue posible establecer condiciones que garanticen su eficiencia para una mayoría de individuos a genotipar. En estos últimos las dificultades presentadas son la ausencia de amplificación y amplificaciones inespecíficas. La presencia de bandas inespecíficas ha sido ya confirmada previamente para los microsatélites aislados a partir de la librería μOct (Greatorex et al., 2000). Este hecho es más crítico con el marcaje con fluorocromos y la resolución en un secuenciador automático.

Se verificó el genotipo de 76 individuos de 2007 para el locus $\mu\text{Ov}6$. Se detectaron 16 alelos de tamaños comprendidos entre 111 y 160 bp. El alelo más frecuente fue el de tamaño 132 bp seguido del alelo de tamaño 138 bp, con frecuencias de 0.47 y 0.18 respectivamente (tabla 2), aunque la mayoría de alelos (93%) mostraron tamaños comprendidos entre 132 y 148 bp.

Tabla 2. Genotipo de la muestra de individuos de *Octopus vulgaris* capturados en 2007 en la Ría de Vigo.

OCT2007-1	132	132	OCT2007-52	132	138
OCT2007-2	132	132	OCT2007-53	132	138
OCT2007-3	132	135	OCT2007-54	132	132
OCT2007-4	132	141	OCT2007-55	132	132
OCT2007-6	132	135	OCT2007-56	138	148
OCT2007-9	132	145	OCT2007-58	132	132
OCT2007-10	132	138	OCT2007-59	138	141
OCT2007-12	132	138	OCT2007-60	135	138
OCT2007-13	132	138	OCT2007-61	132	148
OCT2007-15	132	148	OCT2007-62	132	132
OCT2007-20	132	145	OCT2007-64	132	145
OCT2007-21	132	141	OCT2007-65	132	148
OCT2007-22	116	138	OCT2007-66	138	138
OCT2007-23	138	138	OCT2007-67	132	132
OCT2007-25	151	154	OCT2007-69	132	132
OCT2007-26	132	145	OCT2007-70	132	132
OCT2007-27	138	148	OCT2007-72	132	135
OCT2007-29	132	148	OCT2007-73	138	138
OCT2007-30	132	148	OCT2007-74	132	132
OCT2007-31	132	148	OCT2007-75	132	157
OCT2007-33	129	129	OCT2007-76	141	145
OCT2007-34	138	148	OCT2007-77	126	132
OCT2007-35	132	138	OCT2007-78	132	138
OCT2007-36	132	148	OCT2007-79	132	160

OCT2007-37	132	148	OCT2007-80	138	148
OCT2007-38	132	132	OCT2007-81	132	145
OCT2007-39	145	148	OCT2007-82	138	145
OCT2007-40	132	132	OCT2007-83	132	132
OCT2007-41	132	138	OCT2007-84	132	132
OCT2007-42	138	141	OCT2007-85	132	145
OCT2007-43	132	138	OCT2007-86	132	148
OCT2007-44	138	148	OCT2007-89	138	138
OCT2007-45	132	132	OCT2007-91	132	141
OCT2007-47	132	141	OCT2007-92	132	135
OCT2007-48	132	132	OCT2007-93	123	135
OCT2007-49	132	148	OCT2007-94	132	132
OCT2007-50	148	148	OCT2007-95	111	113
OCT2007-51	145	148	OCT2007-96	132	138

En cuanto a la muestra de 2009 se verificó el genotipo de 58 individuos con el locus μOv6 (Tabla 3). Se detectaron 13 alelos de tamaños comprendidos entre 120 y 160 bp, siendo el alelo más frecuente 132 bp, seguido de 138 bp (con frecuencias de 0.41 y 0.16 respectivamente). La mayoría (88%) de los alelos mostraron tamaños comprendidos entre 132 y 148 bp.

Tabla 3. Genotipo de la muestra de individuos capturados en la Ría de Vigo en 2009.

OCT2009-1	132	132	OCT2009-40	138	148
OCT2009-2	132	148	OCT2009-41	132	141
OCT2009-3	141	157	OCT2009-42	138	138
OCT2009-4	123	138	OCT2009-43	128	132
OCT2009-5	132	145	OCT2009-44	126	132
OCT2009-6	145	151	OCT2009-46	132	148
OCT2009-7	135	151	OCT2009-47	132	138
OCT2009-9	132	148	OCT2009-48	138	148
OCT2009-10	132	132	OCT2009-50	138	138
OCT2009-11	132	145	OCT2009-52	132	138
OCT2009-12	120	141	OCT2009-53	126	148
OCT2009-14	128	141	OCT2009-54	126	138
OCT2009-15	126	132	OCT2009-55	132	141
OCT2009-16	132	141	OCT2009-56	145	145
OCT2009-17	138	145	OCT2009-58	132	148
OCT2009-18	132	132	OCT2009-59	132	138
OCT2009-19	138	141	OCT2009-61	132	141
OCT2009-23	132	148	OCT2009-63	132	132
OCT2009-24	132	148	OCT2009-64	132	132
OCT2009-25	138	145	OCT2009-65	135	141
OCT2009-26	132	135	OCT2009-68	132	145
OCT2009-30	132	145	OCT2009-69	132	132
OCT2009-31	132	138	OCT2009-70	132	160
OCT2009-32	135	145	OCT2009-73	132	132
OCT2009-33	132	132	OCT2009-76	132	135
OCT2009-34	132	132	OCT2009-81	132	138
OCT2009-36	132	145	OCT2009-87	132	151

OCT2009-37	120	132	OCT2009-89	132	138
OCT2009-38	132	141	OCT2009-92	138	148

En 2007 los valores de heterocigosis observada y esperada fueron 0.70 y 0.81, y en 2009 la heterocigosis observada y esperada fue 0.79 y 0.84. Los análisis realizados no revelaron desviaciones significativas del equilibrio Hardy-Weinberg ($P = 0.13$ y $P = 0.90$ respectivamente, tabla 4).

Tabla 4. Descriptores básicos de la variación genética de *Octopus vulgaris* para las poblaciones muestreadas en la Ría de Vigo en 2007 y 2009. Para cada muestra se indican el número de individuos analizados, el número de alelos detectados y la heterocigosis observada y esperada. En ningún caso se encontraron desviaciones significativas del equilibrio Hardy-Weinberg.

Muestra	Número genotipos	Número de alelos	Obs.Het.	Esp.Het.	Test HW P
2007	76	16	0.70	0.81	0.13
2009	58	13	0.79	0.84	0.90

En la figura 1 se muestra la distribución de las frecuencias alélicas en las muestras de 2007 y 2009. Se observan mayoritariamente alelos compartidos y la distribución de las frecuencias alélicas es similar. Los alelos de 111, 114, 116 y 150 bp sólo aparecen en la muestra de 2007, mientras que el alelo de 120 bp está presente sólo en la muestra de 2009, pero todos ellos se encuentran en muy baja frecuencia (0.0065).

La estimación de los valores de F_{ST} entre las muestras del 2007 y 2009 no indican una diferenciación significativa ($F_{ST} = -0.00111$, $P = 0.482 \pm 0.009$).

Estos resultados no permiten concluir que el mantenimiento de las hembras reproductoras en la jaulas esté produciendo un efecto positivo sobre el reclutamiento larvario en la zona. Sin embargo, el hecho de sólo haber podido caracterizar la población con un único locus microsatélite y que la mayoría de individuos sólo hayan presentado unos pocos alelos mayoritarios limita la sensibilidad de los análisis genéticos. No obstante, la liberación de alrededor de 2.500.000 paralarvas al medio natural, procedentes de puestas dejadas en las "jaulas maternidad" necesariamente ha de estar produciendo un efecto positivo sobre el reclutamiento larvario, contribuyendo a la sostenibilidad de las poblaciones naturales de *Octopus vulgaris* en la Ría de Vigo y zonas adyacentes y al incremento de las pesquerías.

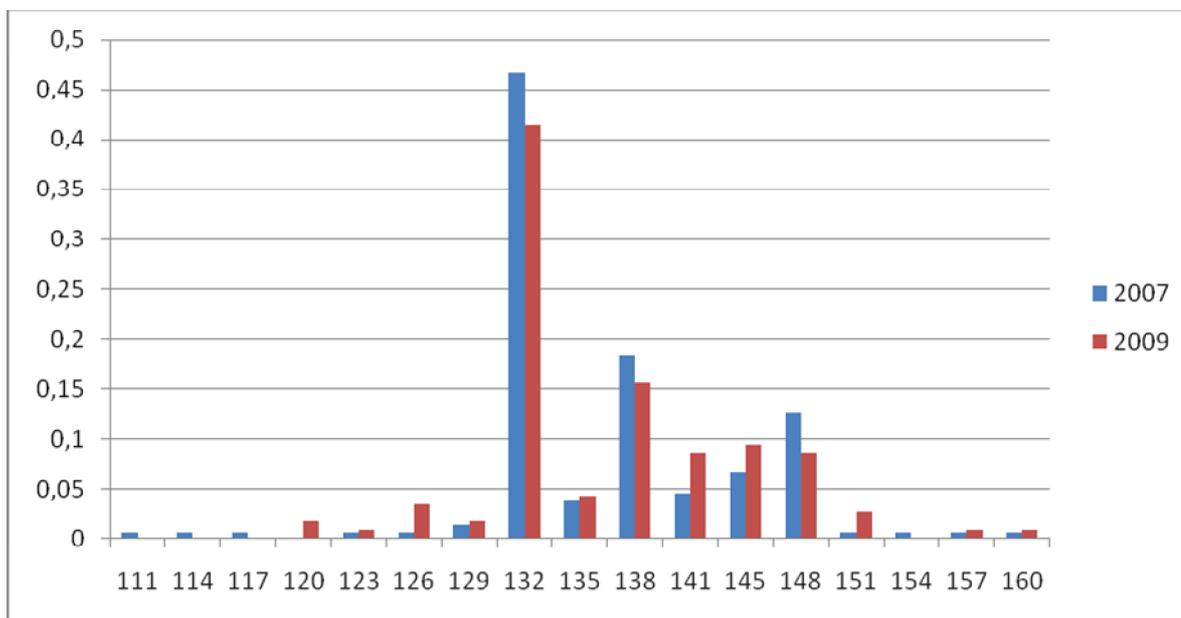


Figura 1. Distribución de las frecuencias alélicas de μOv6en en las muestras de 2007 y 2009. En el eje de las ordenadas se indica el tamaño en bp de los alelos y en el eje de las abscisas se indica la frecuencia de los alelos en cada muestra.

B) Otros resultados obtenidos durante la caracterización genética de los huevos de pulpo mantenidos en las jaulas maternidad.

El pulpo común *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) es una especie gonocórica, es decir, presenta dimorfismo sexual que se caracteriza, en los machos, por la modificación del tercer brazo derecho, llamado hectocótilo, especializado en la transferencia del esperma. El comportamiento reproductivo de *O. vulgaris* implica la inserción del hectocótilo en la cavidad interna del manto de una hembra transfiriéndole los espermatozoides, que pueden permanecer almacenados y viables hasta diez meses. Ambos sexos tienen múltiples compañeros de cópula, siendo probable que exista algún tipo de competencia con el fin de que el último macho en aparearse deje su huella genética en la descendencia, tratando de eliminar el esperma de los anteriores. De hecho, la punta del hectocótilo, llamada lígula, termina de forma roma y parece estar diseñada para este fin.

La información sobre los aspectos reproductivos es de gran importancia para una gestión racional de los stocks, selección de estrategias de repoblación y deberá ser considerada en los estudios de genética de poblaciones y de conservación, así como en el diseño y gestión de la acuicultura de *O. vulgaris*.

El presente estudio utiliza marcadores microsatélite para determinar los genotipos de hembras y de sus puestas, intentando confirmar la hipótesis de la múltiple paternidad, dados los dos patrones de comportamiento reproductivo que son conflictivos en este aspecto: acoplamiento con múltiples individuos y papel del hectocótilo para eliminar los anteriores espermatozoides.

Material y métodos

Las muestras se tomaron de puestas obtenidas en ejemplares bajo condiciones de cultivo (noviembre y diciembre de 2007), conteniendo cada una cuatro racimos con 10 a 15 huevos, así

como del tejido muscular de las hembras correspondientes. Un total de 41 muestras de tejido muscular fue seleccionado para el genotipado de la población. El ADN total fue aislado de 11 embriones así como del tejido muscular de las hembras y de otros especímenes, usando el sistema NucPrep® en un ABI PRISM™ 6100 Nucleic Acid PrepStation (Applied Biosystems). Los embriones, las hembras y las muestras de la población fueron genotipados en los loci de los microsatélites Oct3 (repetición dinucleotídica) y Ov12 (repetición tetranucleotídica), usando los cebadores μ Oct3F/ μ Oct3R y μ Ov12F/ μ Ov12R (Greatorex et al., 2000) marcados con los fluorocromos 6-FAM y TET, respectivamente. PCR: GeneAmp 9700 (Applied Biosystem), desnaturalización a 96°C 5 min, 35 ciclos desnaturalización a 96°C 25 seg, annealing a 54°C 25 seg, y extensión a 72°C 25 seg. Los productos de PCR resultantes, junto con un marcador de tamaño GeneScan-350 ROX (Applied Biosystem), fueron separados y detectados en un secuenciador automático de ADN ABI Prism 377 (Applied Biosystems). La detección de alelos y la estimación de tamaños se llevaron a cabo con el software GenScan y Genotyper (Applied Biosystems). Los diversos análisis realizados se llevaron a cabo con el software GenScan y Genotyper (Applied Biosystems) y CERVUS v3.0 (Kalinowski et al., 2007). Los alelos maternos y paternos en ambos loci fueron deducidos usando el criterio de exclusión (Adam y Ardren, 2008) comparando el genotipo materno con el genotipo de cada descendiente. Las frecuencias alélicas y la heterocigosis en las madres, sus descendientes muestreados y la muestra de la población, fueron estimados con CERVUS v3.0 (Kalinowski *et al.*, 2007). El test de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) fue realizado solamente en la muestra de la población para asumir la independencia del muestreo. Los alelos maternos y paternos en ambos loci fueron deducidos usando el criterio de exclusión (Adam y Ardren 2008), comparando el genotipo materno con el genotipo de cada descendiente. La paternidad múltiple fue evidenciada cuando el número de alelos paternos en una puesta, fue superior a dos. Como alelos paternos se incluyen aquellos distintos a los alelos maternos y alelos homocigóticos o heterocigóticos idénticos a los detectados en la progenitora. Las probabilidades previstas de exclusión, el número mínimo de padres posibles y sus genotipos deducidos más probables, fueron obtenidos usando GERUD v2.0 (Jones 2005). La probabilidad de los genotipos paternos fue obtenida con patrones de segregación y frecuencias genotípicas en la población. Las relaciones entre pares de huevos del mismo racimo fueron estimadas por medio del parentesco entre pares (r) (Queller y Goodnight 1989) con Kingroup (Konovalov *et al.* 2004), según lo dispuesto en el programa KINSHIP (Goodnight y Queller 1999). Así, la múltiple paternidad produce medio-hermanos maternos con un valor previsto de $r=0.25$, mientras que el valor para los hermanos completos es de alrededor de $r=0.5$.

Resultados y Discusión

Los dos microsatélites ensayados, Oct3 y Ov12, revelaron una considerable variación genética que permitió la detección de múltiple paternidad en los racimos con progenitora identificada de *O. vulgaris*. No se detectó ninguna desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg. La probabilidad prevista de exclusión, para los dos loci combinados con un ascendiente conocido, fue de 0.98. Sin embargo, el genotipado poblacional y los racimos de huevos mostraron un valor bajo del heterocigosis en el loci Oct3, relacionado probablemente con la presencia de alelos nulos (Tabla 5). La presencia de alelos nulos fue evidenciada en el caso del racimo A con los cebadores Oct3.

Estudios previos poblacionales sugieren los mismos problemas de genotipado con estos cebadores (Cabranes et al., 2008), sin embargo, estos datos parciales fueron considerados aquí debido a su utilidad para el análisis de exclusión.

Cuatro hembras (A-D) y sus muestras de huevos respectivos (N=11) fueron genotipados para los dos loci. Dentro del racimo A, la hembra mostró un solo alelo (165), pero el estado de homocigosis puede ser desechado debido a la presencia de un alelo simple diferente en uno de los embriones (no.5). Por lo tanto, Oct3 muestra cinco diferentes alelos, un alelo nulo materno y, quizás uno o más alelos nulos paternos. En este racimo A, el genotipado con Ov12 dio lugar a dos alelos maternos y a 7 alelos paternos. En el racimo B, Oct3 muestra cinco alelos, tres de los cuales son diferentes a los maternos. Cinco diferentes alelos fueron detectados para el marcador Ov12. El racimo C mostró tres alelos adicionales para Oct3 y cuatro para el Ov12, además de los dos alelos detectados en la hembra. Finalmente, el racimo D mostró cinco y seis diferentes alelos para los marcadores Oct3 y Ov12, respectivamente.

Tabla 5. Numero de alelos, rango de tamaño de alelos, heterocigosis observada (Ho) y esperada (He), test HWE y frecuencias estimadas de alelos nulos para dos loci en muestras de pulpo común *Octopus vulgaris*.

Locus	k	N	Rango tamaño alelo	Heterocigotos	Homocigotos	Ho	He	HWE	Alelo nulo
Muestra Familiar									
Oct3	16	40		22	18	0.5500	0.8759	ND ¹	0.2295
Ov12	19	48		47	1	0.9792	0.9123	ND	0.0420
Muestra Población									
Oct3	29	29	108-180	17	12	0.5862	0.9468	NS ²	0.2297
Ov12	34	39	160-425	32	7	0.8205	0.9437	NS	0.0673

¹ No determinado, ² No significativo

Los valores estimados de parentesco entre pares (r) por comparaciones dentro de cada racimo fueron dispersos, con un valor medio ≤ 0.4 (Fig. 2) sugiriendo la presencia de medio-hermanos en cada progenie. Los valores medios más bajos de r fueron obtenidos para el racimo 1 ($r=0.23$), 3 y 4 ($r=0.30$). Para los descendientes, el número mínimo de padres es de 3 a 4 y su genotipo fue deducido del valor estimado de verosimilitud (Tabla 6). La progenie engendrada por cada macho va de 2 a 7. Por lo tanto, más de dos alelos paternos fueron encontrados en todas las masas de huevos analizadas, para ambos loci microsatélites, apoyando así la hipótesis de la múltiple paternidad en el pulpo del Atlántico *O. vulgaris*. Este comportamiento reproductivo parece ser una regla general porque más de dos contribuciones paternas fueron detectadas en todos los descendientes analizados.

Los cigotos de medio-hermanos pueden originarse en el tracto reproductivo de la hembra con el muestreo al azar del esperma almacenada y mezclada de diversos machos o por el uso diferencial de las deposiciones de esperma (Shaw y Sauer, 2004; Walker et al., 2006). Los huevos analizados en este estudio fueron muestreados de diversos lugares en cada masa de huevos y además del mismo y de diferentes racimos. Los resultados (Tabla 7) muestran una contribución principal de un solo macho en tres de los cuatro racimos de huevos (B, C, y D), que engendraron más del 50% de los descendientes ensayados. Por otra parte, la relación entre el genotipo masculino y la especificidad de los racimos, no fueron observados.

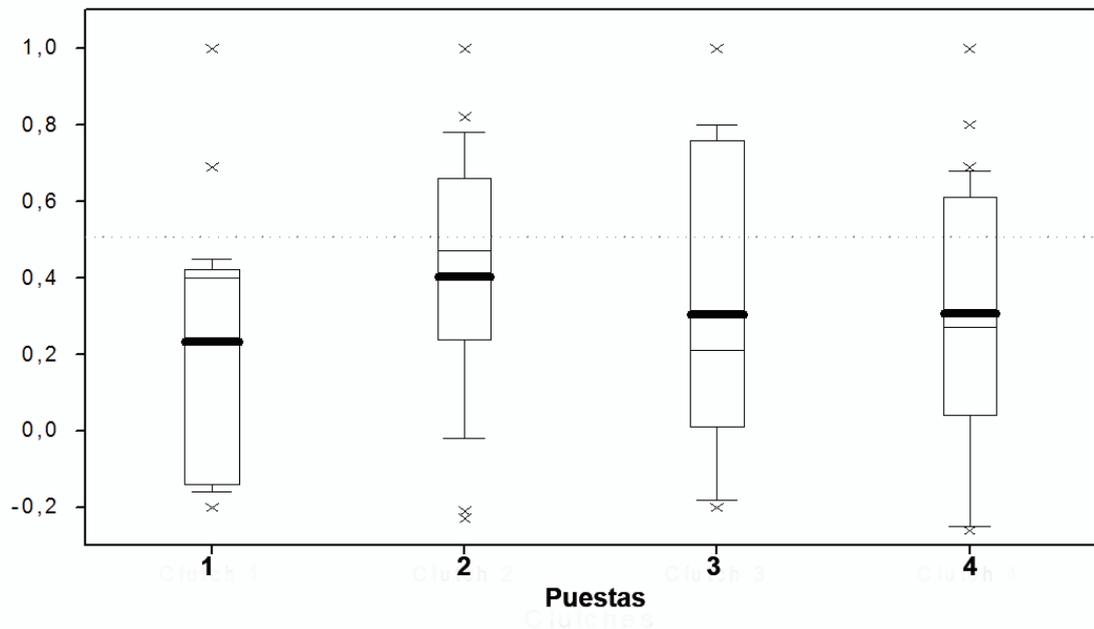


Figura 2. Gráfica de valores R estimados para cada una de las cuatro puestas analizadas de *O. vulgaris*. Las cajas contienen los percentiles 25-75 mientras que las x son datos que se escapan, la línea fina de las cajas representa la mediana, las líneas gruesas de las cajas representan la media y las barras de error indican los percentiles 90 y 10. La línea de puntos indica el valor R=0.5, esperado de todos los hermanos completos.

Aunque el mecanismo detallado del almacenaje y uso del esperma en el oviducto de *O. vulgaris* se conoce mal, este resultado es congruente con el mecanismo del copulación que implica el uso del hectocótilo del macho para quitar los espermátóforos previamente depositados en la espermateca femenina (Hanlon y Messenger, 1996), con eficacia relativa. Por lo tanto, tal como se sugirió para *Loligo bleekeri* (Iwata et al., 2005), los alelos paternos más frecuentes serían proporcionados probablemente por el último episodio de copulación.

Las muestras de las puestas fueron obtenidas de hembras mantenidas en jaulas en el mar. Sin embargo, el relativamente corto tiempo transcurrido entre la captura y el muestreo de los huevos sugiere que la copulación tuvo lugar en el medio natural. Aunque acoplamientos adicionales pudieran ocurrir dentro de la jaula de cultivo, se han descrito a menudo acoplamientos múltiples para esta especie. Por lo tanto, el acoplamiento múltiple no se puede atribuir al estrés originado por el confinamiento y a la alta densidad de individuos, que podrían dar como resultado la alteración del comportamiento reproductivo. Esta sugerencia se puede apoyar por observaciones en el calamar meridional, *Sepioteuthis australis*, donde las masas de huevos obtenidas en cautiverio y las recogidas de la naturaleza (van Camp et al., 2004) fueron analizadas simultáneamente. Así, el patrón observado de paternidad refleja probablemente el comportamiento copulatorio en el medio natural.

Tabla 6. Genotipado con dos loci microsatélites de cuatro hembras de *O. vulgaris* (A-D) e interferencia del mínimo número de padres y sus probables combinaciones genotípicas.

Código de puesta	Genotipo materno		Mínimo No. de padres	Genotipo paterno		No. de progenie	ML
	Oct-3	Ov12		Oct-3	Ov12		
A	165/0	372/386	4 ¹	165/165	182/308	4	1.68E-19
				165/165	194/174	2	1.68E-19
				143/167	200/160	2	1.68E-19
				147/163	194/178	3	1.68E-19
B	139/163	194/315	3	139/163	194/198	2	1.09E-14
				139/153	186/186	7	1.09E-14
				148/141	186/304	2	1.09E-14
C	150/174	227/319	3	174/174	186/182	6	7.98E-16
				150/144	182/182	3	7.98E-16
				140/120	300/339	2	7.98E-16
D	141/146	186/198	3	139/146	190/319	6	7.32E-15
				146/146	213/178	3	7.32E-15
				130/180	319/319	2	7.32E-15

¹ Estimado sin considerar la presencia de alelo/s nulo/s.

Tabla 7. Datos de genotipado para cuatro hembras de *O. vulgaris* (A-D) con dos loci microsatélites y en sus descendientes.

Código	Genotipo materno		Código	Genotipo materno	
	Oct3	Ov12		Oct3	Ov12
Madre A	165/0 ¹	372/386	Madre C	150/174	227/319
	Genotipo descendientes			Genotipo descendientes	
Embrión N°	Oct3	Ov12	Embrión N°	Oct3	Ov12
1	165/0 ¹	182/372	1	174/174	186/319
2	165/143	200/372	2	174/174	182/319
3	165/0 ¹	182/372	3	174/174	186/319
4	165/0 ¹	308/372	4	174/174	186/227
5	0/147	194/386	5	150/150	182/319
6	165/0 ¹	308/372	6	150/140	300/227
7	165/0 ¹	174/386	7	150/144	182/319
8	165/0 ¹	194/386	8	174/174	182/227
9	165/163	194/372	9	174/174	182/319
10	165/163	178/372	10	150/150	182/319
11	165/167	160/372	11	150/120	339/319
Código	Genotipo materno		Código	Genotipo materno	

	Oct3	Ov12		Oct3	Ov12
Madre B	139/163	194/315	Madre D	141/146	186/198
Genotipo descendientes			Genotipo descendientes		
Embrión N ^o	Oct3	Ov12	Embrión N ^o	Oct3	Ov12
1	139/163	186/315	1	139/141	190/198
2	139/139	186/315	2	139/141	319/198
3	139/139	186/315	3	139/141	319/198
4	139/139	186/315	4	146/146	213/186
5	139/148	304/194	5	141/146	178/186
6	139/139	194/194	6	146/146	190/186
7	163/163	198/194	7	141/146	319/198
8	139/163	186/194	8	130/146	319/198
9	139/153	186/194	9	180/146	319/198
10	139/139	186/194	10	146/146	190/186
11	163/141	186/315	11	146/146	178/198
¹ Alelo 165 o alelo nulo materno/paterno.					

Estudios previos sobre ecología reproductiva de cefalópodos han mostrado evidencias de múltiple paternidad. La revisión de la literatura indicó que la múltiple paternidad es consecuencia de competencia masculina y del acoplamiento múltiple en calamares, tales como: *Loligo forbesi* (Shaw y Boyle, 1997), *Loligo pealeii* (Buresch et al., 2001), *Loligo bleekeri* (Iwata et al., 2005), en las jibias gigantes australianas, *Sepia apama* (Naud et al., 2004) y en el calamar meridional, *Sepioteuthis australis* (van Camp et al., 2004). Sin embargo, todas estas especies pertenecen al superorden Decabrachia, y por lo tanto nuestros resultados para *Octopus vulgaris* son la primera evidencia de múltiple paternidad en el superorden Octobrachia, lo que también apoya la generalización de este comportamiento de acoplamiento conservado evolutivamente en cefalópodos coleoides.

Por lo tanto, la múltiple paternidad en *O. vulgaris* es un aspecto que debe ser tomado en cuenta en genética poblacional y de conservación, puesto que afecta al tamaño eficaz de la población (N_e) (Karl, 2008), y también en el diseño y gestión del cultivo (para tener un cociente adecuado de machos: hembras y selección de reproductores).

Conclusiones

Las hembras mueren, al no alimentarse, después del largo período que va desde la puesta hasta la eclosión de los huevos. La paternidad múltiple puede por lo tanto representar un proceso que maximiza la recombinación genética con los múltiples machos en un único acontecimiento reproductivo. El cuidado exhaustivo del huevo garantiza además un nivel adecuado de supervivencia de una descendencia genéticamente diversa.

Referencias citadas:

- Adam, G.J. y W.R. Ardren. 2008. Methods of parentage analysis in natural populations. *Mol. Ecol.* 12: 2511-2523.
- Aguado, F., García, B., 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquac. Int.* 10: 361–377.
- Boletzky S.v., Hanlon, R.T., 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Memoirs of the National Museum* 44: 147-187.
- Cagnetta, P., 1999. The effect of three different rearing strategies on the productive responses of the common octopus (*Octopus vulgaris*). Seminar on the Mediterranean Marine Aquaculture Finfish Species Diversification. Zaragoza, Spain, 24–27 May.
- Cagnetta, P., Sublimi, A., 2000. Productive performance of the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) when fed on a monodiet. *Recent Advances in Mediterranean Aquaculture Finfish Species Diversification. Cah. Options Méditerr.* 47: 331–336.
- Carrasco, J.F., Arronte, J.C., Rodríguez, C., 2006. Paralarval rearing of the common octopus, *Octopus vulgaris* (Cuvier). *Aquac. Res.* 37: 1601–1605.
- Casu, 2002. Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) from the Mediterranean Sea as revealed by a microsatellite locus. *Ital. J. Zool.* 69: 295-300.
- Castro, B., DiMarco, F.P., De Rusha, R., Lee, P.G., 1993. The effects of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 170: 241–252.
- Castro, B.G., Lee, P.G., 1994. The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 109A: 1007-1016.
- Cerezo, J.V., Dolores, M.H., Aguado-Giménez F., García-García, B., 2008. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. *Aquaculture* 275: 266–273.
- Chapela, A., González, A.F., Dawe, E.G., Rocha, F.J., Guerra, A., 2006. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Sci. Mar.* 70: 121-129.
- Domingues, P., Sykes, A., Sommerfield, A., Almansa, E., Lorenzo, A., Andrade, J., 2004. Growth and survival of cuttlefish (*Sepia officinalis*) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture* 229: 239-254.
- Domingues, P., DiMarco, F.P., Andrade, J.P., Lee, P.G., 2005. Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758 *Aquacult. Int.* 13: 423–440.
- García-García, B., Aguado Giménez, F., 2002. Influence of diet on on-growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 211: 171–182.
- García-García, B., Cerezo, J.V., 2006. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. *Aquaculture* 256: 502-511.
- García-García, J., González, L.M.R., García-García, B., 2004. Estudio económico de una explotación tipo de engorde de Pulpo (*Octopus vulgaris*) en Galicia, mediante la analítica de costes. *Revista AquaTIC.* 21: 24-33.

- García-García, B., Cerezo, J., Aguado-Giménez, F., Hernández, M.D., 2007. Crecimiento y mortalidad del pulpo (*Octopus vulgaris*) en engorde en jaulas en mar abierto. Efecto del peso, temperatura, carga inicial y dispersión por tamaños. In: Cerviño, A., Guerra, A., Pérez, C. (Eds.) Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura. 24–28 Septiembre, Vigo, España (2007). pp. 679-682.
- Greatorex E. C., C. S. Jones, J. Murphy, L. N. Key, A. M. Emery, Boyle, P. R., 2000. Microsatellite markers for investigating population structure in *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda). *Molecular Ecology* 9:641.
- Globefish, 2005. Cephalopods: Commodity update. FAO, Eds., Rome, Italy. pp. 4-85.
- Gonçalves, J.M.A., 1993. *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (polvo-comun): sinopse da biologia e exploração. Ms.C. Thesis, Universidade dos Açores, Horta, Açores 470 p.
- Guerra, A., 1978. Sobre la alimentación y el comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Invest. Pesq.* 42: 351–364.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., 1996. The octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier): A future candidate for aquaculture? I.C.E.S., C.M. 1996/F:10. Reykjavik, Iceland.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris*) en el Instituto Español de Oceanografía. En: Costa, J., Abellan, E., García, B., Ortega, A. y Zamara, S., (Eds.). Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura, Cartagena. ISBN: 84-491-0323-1. Pp: 221-226.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., Moxica, C., 1999. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): present knowledge, problems and perspectives. Seminar on the Mediterranean Marine Aquaculture Finfish Species Diversification. Zaragoza, España, 24–27 Mayo.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., Moxica, C., 2000. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier). Present knowledge, problems and perspectives. *Cah. Options Méditerran.* 47: 313–321.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Sánchez, F.J., 2002. Paralarvae culture of octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier) using *Artemia* and zoeas, and first data on juvenile growth up to eight months of age. *European Aquaculture Society, Special Publication* 32: 268-269.
- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., Moxica, C., 2003. El cultivo del pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier). Monografía. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Español de Oceanografía. 23 pp.
- Iglesias, J., Otero, J.J., Moxica, C., Fuentes, L., Sánchez, F.J., 2004. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarvae rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to eight months of age. *Aquacult. Int.* 12: 481-487.
- Iglesias, J., Fuentes, L., Sánchez, J., Otero, J.J., Moxica, C., Lago, M.J., 2006. First feeding of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 paralarvae using *Artemia*: Effect of prey size, prey density and feeding frequency. *Aquaculture* 261: 817-822.
- Iglesias, J., Sánchez, J., Bersanob, J., Carrasco J., Dhont, J., Fuentes L., Linares, F., Muñoz, J., Okumura, S., Roo, J., van der Meeren, T., Vidal, E., Villanueva, R., 2007a. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266: 1-15.

- Iglesias, J., Sánchez, F.J., Otero, J.J., Lago, M.J., Moxica, C., Fuentes, L., and Martínez, F.J., 2007b. Engorde industrial de pulpo *Octopus vulgaris* en batea en la Ría de Vigo. In: Cerviño, A., Guerra, A., Pérez, C. (Eds.) Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura. 24–28 Septiembre, Vigo, España (2007). pp. 683-686.
- Kalinowski, S.T., M.L. Taper y T.C. Marshall. 2007. Revising how the computer program Cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.* 16: 1099-1106.
- Lee, P.G., 1994. Nutrition of cephalopods: fuelling the system. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 25: 35–51.
- Luaces-Canosa, M., y Rey-Méndez, M., 1999. El engorde industrial del pulpo (*Octopus vulgaris*) en jaulas: análisis de dos años de cultivo en la Ría de Camariñas (Galicia). VII Congreso Nacional de Acuicultura (1999). In: Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M. (Eds.), *Convergencia entre Investigación y Empresa: Un reto para el Siglo XXI*, Monografías del ICCM, Las Palmas de Gran Canaria, pp. 184– 189.
- Miliou, H., Fintikaki, M., Kountouris, T., Verriopoulos, G., 2005. Combined effects of temperature and body weight on growth and protein utilization of the common octopus, *Octopus vulgaris*. *Aquaculture* 249: 245-256.
- Miliou, H., Fintikaki, M., Tzitzinakis, M., Kountouris, T., Verriopoulos, G., 2006. Fatty acid composition of the common octopus, *Octopus vulgaris*, in relation to rearing temperature and body weight. *Aquaculture* 256: 311-322.
- Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., Hontoria, F., 2007. Enrichment of *Artemia* nauplii in vitamin A, vitamin C and methionine using liposomes. *Aquaculture* 269: 504-513.
- Moxica, C., Linares, F., Otero, J.J., Iglesias, J., Sánchez, F.J., 2002. Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, en tanques de 9 m³. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18: 31-36. (in Spanish, English abstract).
- Moxica, C., Fuentes, L., Hernández, J., Iglesias, J., Lago, M.J., Otero, J.J. and Sánchez, F.J., 2006. Efecto de *Nannochloropsis* sp. en la supervivencia y crecimiento de paralarvas de pulpo *Octopus vulgaris*. IX Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 10 y 11 de Octubre de 2006, O Grove, España. pp. 255–269.
- Murphy J. M., E. Balguerías, L. N. Key, and P. R. Boyle. Microsatellite DNA markers discriminate between two *octopus vulgaris* (cephalopoda: octopoda) fisheries along the northwest african coast. *Bulletin of Marine Science.* 71 (1): 545–553.
- Quintana, D., Domingues, P., García, S., 2008. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. *Aquaculture* 280: 161–164.
- Rama-villar, A., V. Faya, C. Moxica y M. Rey-Mendez. 1997. Engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*) en batea. En: Costa, J., Abellán, E., García, B., Ortega, A. y Zamara, S., (Eds.) Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura, Cartagena. ISBN: 84-491-0323-1, pp. 245-250.

- Rey-Méndez, M., Tuñón, E.G., Amor, R., 2001. Estudio comparativo del tipo de jaula y disposición de refugios sobre la mortalidad en el engorde del pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797). COLACMAR-2001. San Andrés (Colombia).
- Rodríguez, C., Carrasco, J.F., Arronte, J.C., and Rodríguez, M., 2006. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile ongrowing in floating cages. *Aquaculture* 254: 293-300.
- Rodríguez, C., Perez, J.A., Lorenzo, A., Izquierdo, M.S., Cejas, J.R., 1994. n-3 HUFA requirement of larval gilthead seabream *Sparus aurata* when using high levels of eicosapentaenoic acid. *Comp. Biochem. Physiol.* 107A: 693-698.
- Sánchez, F.J., Iglesias, J., Moxica, C., Otero, J.J., 1998. Growth of octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier) males and females under culture conditions. I.C.E.S., C.M. 1998/M:47. Cascais, Portugal.
- Sato, N., Murata, N., 1988. Membrane lipids. In: Packer, L., Glazer, A.N. (Eds.), *Methods in Enzymology*, Vol. 167, Academic Press, New York, pp. 251-259.
- Sendão, J.C., Carvalho, V., Borges, T.C., 1998. Rearing octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) with three different diets. *Livro de Resumos. VI Congresso Nacional de Aquicultura*. Viana do Castelo, Portugal, 15– 16 Outubro de 1998.
- Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L.M.P, Otero, A., 2008. Producing juvenile *Artemia* as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with different microalgal species of controlled biochemical composition. *Aquaculture* 283: 83-91.
- Socorro, J., Roo, J., Fernández-López, A., Guirao, R., Reyes, T., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., 2005. Engorde de pulpo *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 en jaulas flotantes alimentado exclusivamente con boga *Boops boops* (L., 1758) de descarte de la acuicultura. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 21: 189-194.
- Tuñón, E., Parada, A., Caeiro, C., y Rey-Méndez, M., 1999. Efecto de la clasificación por sexo y tamaño en el engorde industrial de pulpo en jaulas suspendidas de batea. En: *Actas das Ponencias y Traballos do II Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*. 7 y 8 de octubre de 1999, O Grove, España.
- Tuñón, E., Parada, A., Caeiro, C., y Rey-Méndez, M., 2000. Efecto del tamaño inicial en el engorde industrial de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) en jaulas suspendidas de batea. En: *Libro de Resúmenes del III Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*. 9 y 10 de octubre de 2000, O Grove, España.
- Tuñón, E., Parada, A., Caeiro, C., Rey-Méndez, M., 2001. Estudio comparativo basado en la dieta diferenciada para el engorde de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier), en una explotación industrial. *Actas del IV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas*. 10 y 11 de Octubre de 2001. pp. 255–269.
- Tuñón, E., Luaces-Canosa, M., y Rey-Méndez, M., 2003. Estudio de los efectos del peso inicial y el sexo sobre el comportamiento, la mortalidad y el crecimiento del pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797) en cultivo industrial. *IX Congreso Nacional de Acuicultura*. (2003). Cádiz.
- Vaz-Pires, P., Seixas, P., Barbosa, A., 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture* 238: 221-238.

- Villanueva, R., 1995. Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 2639-2650.
- Villanueva, R., Nozais, C., Boletzky, S.V., 1995. The planktonic life of octopuses. *Nature* 377, 107.
- Villanueva, R., Koueta, N., Riba, J., Boucaud-Camou, E., 2002. Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food rations during first feeding, using *Artemia* nauplii and compound diets. *Aquaculture* 205: 269–286.
- Villanueva, R., Riba, J., Ruíz-Capillas, C., González, A.V., Baeta, M., 2004. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture* 242: 455-478.
- Young, R.E., Harman, R.F., 1988. “Larva”, “paralarva” and “subadult” in cephalopod terminology. *Malacologia*, 29(1): 201-207.
- Zar, J. H., 1999. *Biostatistical analysis*. 4th Ed., Prentice Hall, Inc. New Jersey. 660 pp.