

INFORME FINAL SOBRE PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS 2001-2003

1. DATOS ADMINISTRATIVOS

TITULO: Desarrollo de técnicas de cultivo de nuevas especies de espáridos: dentón, pargo y hurta

PLAN NACIONAL DE: CULTIVO DE ESPÁRIDOS

FECHAS DE REALIZACIÓN

Presupuesto en euros: 620.320

Inicio del Plan: 2001

Finalización del Plan: 2003

PARTICIPANTES

Comunidad Autónoma de Andalucía

- Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa. Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera (IFAPA). Centro de Investigación y Formación Pesquera y Acuícola "El Toruño"

Responsable:

Nombre y Apellidos: Salvador Cárdenas Rojas
Organismo:: Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera (IFAPA)
Centro: C.I.C.E.M. "El Toruño"
Departamento: Producción
Teléfono: 956 011309
Fax: 956 011324
Correo electrónico: salvador.cardenas.rojas@juntadeandalucia.es
Dirección postal: Apartado de correos 16. 11500. El Puerto de Santamaría

Comunidad Autónoma de Baleares

- Conselleria d`Agricultura i Pesca
- IMEDEA. Consejo Superior de Investigaciones Científicas
- Universidad Autónoma de Barcelona.

Responsable:

Nombre y Apellidos: Amalia Grau Jofre
 Organismo: Dirección General de Pesca-Governm Balear
 Centro: Estación de Acuicultura
 Departamento: Servicio de Recursos Marinos
 Teléfono:
 Fax
 Dirección postal:

Comunidad Autónoma de Canarias

- Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa. Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera (IFAPA). Centro de Investigación y Formación Pesquera y Acuícola "El Toruño"

Responsable:

Nombre y Apellidos: Salvador Cárdenas Rojas
 Organismo:: Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera (IFAPA)
 Centro: C.I.C.E.M. "El Toruño"
 Departamento: Producción
 Teléfono: 956 011309
 Fax: 956 011324
 Correo electrónico: salvador.cardenas.rojas@juntadeandalucia.es
 Dirección postal: Apartado de correos 16. 11500. El Puerto de Santamaría

Comunidad Autónoma de Cataluña

- Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias
- Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria

Responsable:

Nombre y Apellidos: Alicia Estévez García
 Organismo: I.R.T.A.
 Centro: Acuicultura
 Departamento: Área de Cultivos Experimentales
 Teléfono: 977 745427

Fax: 977 744138
Correo electrónico: alicia.estevez@irta.es
Dirección Postal: Ctra. Poble Nou

Comunidad Autónoma de Murcia

- Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente

Responsable:

Nombre y Apellidos: Benjamín García García
Organismo: Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA)

Centro:

Departamento: Acuicultura
Teléfono: 968 184518
Fax: 968 184518
Correo electrónico: benjamin.garcia@carm.es

Dirección postal: Centro de Recursos Marinos. Apartado de correos 65. 30740. San Pedro del Pinatar

- Instituto Español de Oceanografía (IEO)

Responsable:

Nombre y Apellidos: Emilia Abellán Martínez
Organismo: Instituto Español de Oceanografía
Centro: Centro Oceanográfico de Murcia

Departamento: Cultivos Marinos

Teléfono: 968 153339

Fax: 968 153934

Correo electrónico: emilia.abellán@mu.ieo.es

Dirección postal: Carretera de la Azohía s/n. 30860. Mazarrón. Murcia

Comunidad Autónoma de Valencia

- Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal

Responsable:

Nombre y Apellidos: Jaume Pérez Sánchez

Organismo: C.S.I. C.

Centro: Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal

Departamento: Biología, Cultivo y Patología de Especies Marinas

Teléfono: 964 319500

Fax: 964 319509

Correo electrónico: jperez@iats.csic.es

Dirección postal: Inst. Acuicultura de Torre de la Sal, 12595 Ribera de Cabanes, Castellón

DATOS DE LA COORDINADORA DEL PROYECTO

Nombre y Apellidos: Emilia Abellán Martínez
Organismo: Instituto Español de Oceanografía
Centro: Centro Oceanográfico de Murcia
Departamento: Cultivos Marinos
Teléfono: 968 153339
Fax: 968 153934
Correo electrónico: emilia.abellan@mu.ieo.es
Dirección postal completa: Ctra. de la Azohía s/n. 30740

2. RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

- CA de Andalucía. Subproyecto Hurta

OBJETIVOS INICIALES

1. Aclimatación de reproductores de hurta
2. Conocer la evolución gonadal de la hurta en el medio natural mediante técnicas histológicas e histoquímicas
3. Obtención de puestas en cautividad y control de su calidad
4. Establecer las pautas alimenticias y las condiciones de cultivo durante la cría larvaria
5. Desarrollar técnicas de preengorde en tanques y jaulas

OBJETIVOS REALIZADOS

Se han alcanzado totalmente los objetivos 1, 3, 4, 5 y parcialmente el objetivo 2

METODOLOGÍA

Aclimatación

Aunque el proceso de aclimatación a la cautividad comenzó en el año 1998 con la captura de 30 hurtas, se han incorporado en años sucesivos nuevos individuos hasta completar un total de 130 ejemplares en 2001. Las capturas se realizaron en el litoral de Cádiz.

Durante un primer período (1998-2001) las hurtas se estabularon en tanques de 10-12 m³ con circulación de agua en circuito abierto. con posterioridad

(octubre 2001) se trasladaron todas las hurtas a un tanque de 25 x 4 x 2,75 m, capacidad de 250.000 litros, y que se encontraba sometido a un régimen de circulación de agua en circuito cerrado (se recircula el 90 % del volumen del mismo). el sistema cuenta con otro tanque rectangular de menores dimensiones (25 x 2 x 1,5 m; 50 000 litros) que realizaba las funciones de filtro biológico.

Los reproductores de hurtas se alimentaron con una dieta congelada a base de cefalópodos, dieta viva a base de crustáceos decápodos (cangrejos) y dieta seca a base de piensos comerciales. Todas las hurtas se marcaron con marcas internas electrónicas pit.

PUESTA

RECOLECCIÓN Y RECUENTO DE HUEVOS

Diariamente se recogieron los huevos y se separó la fracción flotante (hf) de la no flotante (hnf). la viabilidad de la puesta se determinó mediante el recuento de 5 muestras de 5 ml de cada fracción (flotante y decantada) previa homogenización de la muestra seleccionándose para su incubación las puestas en que la fracción flotante estuvo entre 60-100% del total de la puesta. Los datos que se tomaron fueron los siguientes: número total de huevos = hf + hnf y flotabilidad = $[hf / (hf + hnf)] \times 100$.

INCUBACIÓN

Se realizó en tanques cilindro-cónicos de 100 y 350 litros de capacidad, con una renovación de 2 a 9 l min⁻¹ procediéndose posteriormente al sifonado y conteo de los huevos muertos. Los datos que se tomaron fueron los siguientes: Tasa de desarrollo embrionario = Número de huevos embrionados / Número total de huevos x 100 y Tasa de eclosión = Número de larvas / Número total de huevos x 100.

Cultivo larvario y destete

SIEMBRA Y ESTABULACIONES.

Una vez eclosionadas, las larvas de hurta, con edad de 1 a 3 días, se estabularon en tanques para proceder a su cultivo larvario. Fueron estabuladas en tanques cilíndricos de 400 ó 1000 litros de capacidad con desagüe central provisto de una malla cuyos tamaños van desde 150 µm a 1 mm según va avanzando el cultivo y de acuerdo con el tamaño de las larvas. En los días de la alimentación con rotífero, se renovó diariamente 1/4 de la capacidad del tanque, con agua decantada y filtrada, esterilizada por UV.

SECUENCIA ALIMENTARIA

El primer alimento suministrado fue el rotífero *Brachionus plicatilis* desde un día anterior a la apertura de la boca. La técnica de cría en esta fase fue mediante "aguas verdes", mezclando *I. galbana* y *N. gaditana* 1/4 y 3/4 respectivamente. El aporte de Artemia comenzó aproximadamente al día 15 de edad según el crecimiento que hayan experimentado las larvas. Se suministró nauplios de Artemia de elevada calidad, recién eclosionados. A partir del día 25 se comenzó a suministrar pequeñas cantidades de pienso de destete.

Posteriormente se fue eliminando la Artemia poco a poco hasta terminar solo con los piensos referidos.

Preengorde

Se utilizaron las técnicas habituales de cultivo en esta fase de alevinaje.

Técnicas histológicas

Los ejemplares de *Pagrus auriga* utilizados en el estudio histológico fueron capturados en el caladero de Conil en el golfo de Cádiz entre abril y octubre del 2002. Los pesos y tallas estuvieron comprendido entre 369,0-895,5 gr. y 27,0-37,5 cm. respectivamente. Tras el examen macroscópico y toma de datos biométricos e índices gonadosomático y hepatosomático se procedió a la extracción de los diferentes órganos y tejidos. Las muestras destinadas al estudio histológico fueron fijadas en formol 10% v/v tamponado en fosfato al 1% (ph 7,2) y procesadas para la obtención de bloques en parafina y resina 2-hidroxi-etil-metacrilato (historesín) obteniéndose cortes de 5-7 μm . y 3 μm . respectivamente.

Las muestras destinadas a microscopía electrónica de barrido fueron fijadas en glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodrilato sódico 0,1 M (ph 7,2), seguido de una postfijación en tetraóxido de osmio al 2% en tampón cacodrilato sódico 0,2 M en una proporción 1:1. Posteriormente se procedió el estudio histomorfológico, localización histoquímica de carbohidratos, proteínas e histoenzimas, y histopatológico.

RESULTADOS

Aclimatación

En total se estabularon los 130 ejemplares disponibles, con un peso medio entre 320 y 4.550 g, y un número de machos teóricos que situamos alrededor de los 9 ejemplares. las condiciones de cultivo en este sistema de recirculación (ras) resultaron ser las más idóneas para la estabulación de las hurtas, habiéndose conseguido mantener una buena calidad del agua con una turbidez de $0,65 \pm 0,74$ ntu, un régimen de temperaturas entre 14,5 y 25,3 °C, y niveles aceptables de oxígeno disuelto, salinidad, pH, amonio y nitrito. Además, no se han registrado patologías importantes durante la estabulación en circuito cerrado y hemos observado una disminución importante en el número de hurtas exoftálmicas. La supervivencia del banco de reproductores de hurta, desde su estabulación en octubre de 2001 hasta diciembre de 2003, se ha situado en el 91 %.

Puestas

Hemos obtenido, por primera vez para esta especie, puestas en cautividad durante los años 2002 Y 2003.

La producción total en **2002** (agosto – noviembre) se ha situado en los 4,6 millones de huevos, con una tasa de fertilidad del 64 %. Los huevos embrionados después de la incubación han producido 2,6 millones de larvas, lo que supone una tasa de eclosión del 83 %. Los huevos embrionados

presentaron un diámetro de 1 mm y un peso seco de 40 µg, dando larvas de 2,8 mm de longitud y 25 µg de peso seco tras la eclosión.

La producción total en el **2003** (septiembre – diciembre) se ha situado en los 6,9 millones de huevos, con una flotabilidad del 68,2 %. Las puestas más abundantes se han obtenido a 24 °C (septiembre – octubre). La fecundidad diaria (media ± d. t.) ha sido de 76.666 ± 96.384 huevos.

CRÍA LARVARIA Y PREENGORDE

2002

Las larvas (50 larvas / litro) con edad de uno a tres días se estabularon en tanques para proceder a su cultivo larvario. Las larvas experimentaron el típico descenso en peso durante la etapa de reabsorción del saco vitelino, antes de comenzar la alimentación exógena entre los días 3 y 4 de vida. en este momento el peso medio de las larvas se situó en torno a los 16 µg. El crecimiento fue de naturaleza exponencial durante el intervalo de tiempo estudiado (0 a 30 días de vida), alcanzando las larvas un peso medio final de 2,5 mg. Este valor corresponde a tasas de crecimiento, para condiciones similares de cultivo, del orden de tres veces superior a las registradas con larvas de dorada. Los alevines destetados a los 50 días se adaptaron perfectamente a la alimentación artificial a base de piensos secos. La fase de preengorde comenzó a los dos meses con unos 370 alevines, con un peso húmedo medio entre 1,8 y 3,7 gramos. la supervivencia obtenida, en una de las series de cultivo larvario, hasta los 30 días de vida se ha situado alrededor del 60 %, mientras la supervivencia media a los 60 días de vida ha sido del 0,3 %, con un máximo del 2,2 %.

2003

Las larvas (50 larvas / litro) con edad de uno a tres días se estabularon en tanques para proceder a su cultivo larvario. Los alevines destetados a los 50 días se adaptaron perfectamente a la alimentación artificial a base de piensos secos. La producción total (septiembre 2003 – abril 2004) en el criadero ha sido de 4.877 alevines con un peso medio entre 3 a 16 gramos (3-5 meses de edad). Con este tamaño se trasladaron al semillero para su preengorde secundario.

Histofisiología e histopatología

Se ha confirmado el hermafroditismo proterogino de *pagrus auriga*. Los ejemplares estudiados presentaron un ovario bilobulado. Aparece recubierto de una membrana serosa peritoneal, en cuyo tejido conectivo laxo se sitúan vasos y nervios, así como tejido adiposo. Las unidades básicas del ovario son los folículos ováricos cuya organización es similar en todos los teleósteos. El ovocito está rodeado por la envuelta vitelina.

Las técnicas histoquímicas mostraron positividad intensa a la reacción del pas y azul alcian ph 2,5 evidenciando la presencia de glicoproteínas y mucosustancias neutras y carboxiladas. Mucosustancias ácidas en el núcleo y pared del saco ovígeno, y gran basofilia en el citoplasma de los ovocitos fueron puestas de manifiesto. La presencia de proteínas se ha localizado

especialmente en los nucleolos y citoplasma del ovocito, tratándose de proteínas ricas en lisina, cistina y arginina.

El hígado presenta grandes variaciones durante el ciclo reproductivo debido, en parte, a las necesidades energéticas durante la síntesis hepática de vitelogenina. La estructura del hígado de *Pagrus auriga* presenta hepatocitos que se distribuyen en cordoncillos que se disponen concéntricamente alrededor de los sinusoides. Además se observan fibras de tejido conectivo con función de almacén-soporte y un sistema vascular con un endotelio evidente. El páncreas exocrino es intrahepático localizándose las células alrededor de los vasos sanguíneos. Los hepatocitos poseen un citoplasma granular y vacuolizado, mientras que las células pancreáticas presentan un citoplasma fuertemente basófilo y rico en gránulos zimógeno acidófilo. El citoplasma de los hepatocitos contiene gránulos de glucógeno evidenciados por las reacciones de PAS (positivo) y diastasa PAS (negativo). Es de destacar la gran basofilia que posee el citoplasma de las células pancreáticas, siendo débil en el tejido hepático; también se observa una fuerte tinción con la técnica c.e.c. 0,05 m, la cual muestra la presencia de mucinas ácidas en los hepatocitos y células pancreáticas. En el tejido hepático es especialmente abundante las proteínas ricas en lisina, cistina y arginina, mientras que en los granos de zimógeno de las células pancreáticas se tratan fundamentalmente de proteínas ricas en triptófano.

Por otro lado, en todos los ejemplares se estudiaron muestras de branquias para descartar cualquier posible proceso patológico, relacionado con agentes patógenos y/u otras causas inductoras de estrés ambiental. En *Pagrus auriga* los arcos branquiales soportan un par de hileras de lamelas branquiales y éstas a su vez están recubiertas por laminillas branquiales que se disponen paralelas entre sí y perpendiculares a las lamelas. Las lamelas branquiales están constituidas por tejido cartilaginoso, sistema vascular y un epitelio pluriestratificado formado por distintos tipos de células (cloruro, mucosa y epiteliales pavimentosa), mientras que las laminillas presentan un epitelio constituido por una doble capa de células epiteliales respiratorias y células pilares.

Con las técnicas histoquímicas empleadas hemos observado que el contenido de las células mucosas branquiales, lo constituyen fundamentalmente glicoproteínas y mucosustancias ácidas carboxiladas y sulfatadas. El cartílago branquial muestra en su matriz una intensa basofilia y una fuerte reacción al PAS y al azul alcian a los diferentes pH. En todo el tejido branquial se localiza proteínas ricas en lisina y arginina pero especialmente en cistina. Tras la observación microscópica de los cortes realizados, se observaron alteraciones histopatológicas en las branquias de algunos ejemplares, relacionadas con: edema e hipertrofia, dilatación en la zona apical de las laminillas, descamación de las vellosidades así como procesos de parasitosis e infecciones bacterianas

CONCLUSIONES

Uno de los objetivos fundamentales de este proyecto era la domesticación de la hurta a las condiciones de cautividad, sobre la cual no se disponía de la

experiencia suficiente. Este objetivo se ha cumplido durante los años 2001 y 2002, habiéndose avanzado en el conocimientos sobre la calidad de agua más adecuada para esta especie y su comportamiento en cautividad. Además, durante los años 2002 y 2003 se obtuvieron por primera vez para esta especie puestas en cautividad en número suficiente para poder hacer los primeros ensayos de cría larvaria y preengorde.

DIFUSIÓN

Se participó en el IX Congreso Nacional de acuicultura. mayo 2003. Cádiz. Dos comunicaciones en cartel y una comunicación oral.

Salvador Cárdenas y José Pedro Cañavate participaron en la mesa redonda sobre “Cultivo de nuevas especies en acuicultura” dentro del IX Congreso Nacional de Acuicultura. Mayo 2003. Cádiz.

Se participó en el II Encuentro de Ciencias del mar y ambientales dentro del proyecto OPAM. 2 al 4 de diciembre. Cádiz (España). Una comunicación oral.

Salvador Cárdenas participó en el seminario sobre “diversificación en piscicultura del litoral suratlántico” dentro del proyecto DIVERAQUA. 11 al 12 de diciembre. Cartaya (Huelva).

Se realizó la siguiente publicacuón divulgativa:

Cárdenas s. 2003. Reproducción de la hurta. *ruta pesquera* 37: 26-27.

Comunicaciones:

Cárdenas S., Cañavate J. P., Sánchez-Lamadrid A. y Naranjo J. M. 2003. Domesticación de la hurta (*Pagrus auriga*). Libro de resúmenes del IX Congreso Nacional de Acuicultura. 12 al 16 de mayo. Cádiz (España). pp: 393-394. comunicación oral.

Jiménez-Tenorio N., Rendón M. C., Oliva M., Cárdenas S., Sarasquete C. y González de Canales M. L. 2003. **Contribución preliminar a la histofisiología e histopatología de la hurta (*Pagrus auriga*)**. Libro de resúmenes del IX Congreso Nacional de Acuicultura. 12 al 16 de mayo. Cádiz (España). pp: 381-383. comunicación en cartel.

Padilla f., Sánchez-Lamadrid A. y Cárdenas s. 2003. Engorde de la hurta en tanques. II Encuentro de ciencias del mar y ambientales. 2 al 4 de diciembre. Cádiz (España). Comunicación oral.

Prieto A., Cañavate J. P. y Cárdenas S. 2003. **Crecimiento de larvas de hurta (*pagrus auriga*) en cultivo**. Libro de resúmenes del IX Congreso Nacional de Acuicultura. 12 al 16 de mayo. Cádiz (España). pp: 386-387. Comunicación en cartel.

INCIDENCIAS DE DESARROLLO

Durante la fase de aclimatación ocurrieron las siguientes incidencias:

1. Fue necesario cubrir los tanques con redes para evitar mortandades en los cultivos, provocadas por saltos de los ejemplares fuera del agua
2. Hubo que tapar los tanques con mallas de rafia negra para mantener un ambiente de iluminación más tenue, y evitar situaciones de estrés en las hurtas
3. Los niveles de turbidez del agua de cultivo en circuito abierto, situados en valores de $3,11 \pm 3,79$ ntu, también produjeron situaciones de estrés.
4. En los cultivos ha sido frecuente la aparición de exoftalmia, con posterior pérdida de la visión parcial o total, probablemente debido a la escasa profundidad de nuestros tanques (1,2 m.) durante el primer período (1998-2001).
5. Se detectó una escasez de machos, que no permitió obtener puestas durante el primer año de este subproyecto (2001).
Hubo dificultades para conseguir ejemplares salvajes de hurta para poder desarrollar el objetivo nº 2, lo cual implicó que solo se pudiera realizar un estudio preliminar para cubrir este objetivo (Jiménez *et al.*, 2003).

- CA de Baleares. Subproyecto Dentón

OBJETIVOS INICIALES

1. Estudio de estandarización de la cría larvaria
2. Estudios de canibalismo en la fase de destete
3. Estudios de nutrición y diseño de piensos experimentales
4. Estudio de la bisexualidad juvenil del dentón en la zona de Baleares.
5. Atlas histológico del dentón

OBJETIVOS REALIZADOS

De acuerdo con el cronograma que se planteó para la ejecución del proyecto, el grado de ajuste con los objetivos fijados en el mismo es de un 75%. De los 5 objetivos previstos 2 se han desarrollado completamente, y 2 de manera parcial, realizándose un mayor esfuerzo del previsto inicialmente en el proyecto de compra y captura de ejemplares para su estudio gonadal y descripción del patrón morfológico de la especie en el medio natural.

METODOLOGÍA

1. Técnicas histológicas
2. Técnicas histoquímicas
3. Técnicas ultraestructurales (SEM, TEM)
4. Técnicas analíticas de determinación serológica de indicadores de inmunidad inespecífica
5. Metodología de cría en hatchery

6. Tecnología de fabricación de piensos extrusionados en frío
7. Técnicas fotográficas
8. Técnicas otolimétricas

A continuación se detallan los objetivos planteados en el proyecto y se detalla el grado de ejecución de los mismos:

1. Estudio de la estandarización de la cría larvaria

1.1. Prueba de ajustar la densidad larvaria en la fase de rotífero:

Esta prueba se ejecutó durante la primavera del año 2002. Para ello se sembraron 6 tanques cilíndricos de 400l a densidades de 50, 75 y 100 larvas/ml por duplicado, suministrando el rotífero a una densidad de presas de 20 rotíferos/ml desde la apertura de la boca. La prueba tuvo una duración de 15 días. Se determinó la supervivencia por tanque, el peso seco inicial y final y la longitud total inicial y final. Las supervivencias en esta prueba han sido muy bajas, que atribuimos al manejo al que fueron sometidos las larvas durante la fase lecitotrófica para efectuar los conteos por volumetría. Las mayores supervivencias se dieron en los tanques en los que se habían estabulado 50 larvas/L. Se está procediendo a la elaboración de resultados estadísticos. De todos modos, consideramos que sería interesante la repetición de la prueba debido a las bajas supervivencias obtenidas en todos los tanques.

1.2. Estudio al SEM y TEM del desarrollo larvario.

Se ha realizado la toma de muestras de larvas en diferentes momentos de la fase de cría.

1.3. Prueba de la apertura de la boca.

Esta prueba no ha podido ser ejecutada debido a la demora que presentan las obras de remodelación de nuestra planta de cría y engorde. En el momento en que éstas estén finalizadas se ejecutará la experiencia programada y se comunicarán los resultados a esta Secretaría General.

2. Estudio del canibalismo en fase destete

Este objetivo no ha podido ser ejecutado por los motivos anteriormente expuestos. En el momento en que finalicen las obras de remodelación anteriormente comentadas se procederá a la ejecución de las 2 pruebas programadas, comunicándose los resultados obtenidos a esta Secretaría General.

3. Estudio de nutrición y diseño de piensos experimentales

3.1. Ensayo de la suplementación de la dieta del dentón con vitamina E y C y su efecto sobre los parámetros biométricos e inmunológicos.

La prueba se inició en diciembre de 2002, ensayándose, por duplicado, 3 dietas experimentales y una control, utilizándose para ello 8 jaulas de 6 m³. La

dieta base utilizada para la introducción de los diferentes inmunoestimulantes ensayados ha sido harina de pienso Europa de rodaballo de la marca TROUW, la cual se ha peleteado una única vez en la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), introduciéndole el inmunoestimulante ensayado. La dieta control (sin inmunoestimulantes) también ha sido peleteada en la UPV para evitar diferencias en la textura de los gránulos. El tamaño del gránulo utilizado ha ido en aumento a medida que aumentaba el tamaño de los peces, y para el racionamiento del alimento se han utilizado tablas de alimentación convencionales de dorada suministradas por la empresa TROUW.

Las dietas experimentales ensayadas han sido las siguientes: dieta con exceso de vit. C, a razón de 6.67g/Kg; dieta con exceso de vitamina E, a razón de 1g/Kg, y dieta con glucanos (macrogard), a razón de 5g/Kg.

Al inicio de la experiencia, se procedió a la toma de parámetros biométricos (peso medio=99'68g y Longitud Total=17'9cm), tomándose muestras también de suero para el análisis de indicadores de estrés y de los diversos órganos internos para su estudio histológico. Se establecieron un total de 1120 ejemplares. La experiencia finalizó en abril de 2003. El análisis del suero fue realizado en La Universitat Autònoma de Barcelona por el equipo del Dr. Tort, y el análisis histológico ha sido realizado en la misma Universidad por el equipo de la Dra. Crespo. El pienso, como hemos comentado anteriormente, se ha fabricado en la Universitat Politècnica de València por el equipo del Dr. Jover, a partir de harinas de pienso industriales de la marca TROUW. Los resultados biométricos están siendo procesados. siendo los resultados de los análisis sanguíneos los siguientes:

Muchas de las muestras presentaban hemólisis generalizada, debido a lo cual sólo se pudieron realizar parte de la analítica prevista. Se determinaron los niveles de inmunoglobulinas, proteínas totales y cortisol.

Respecto al cortisol, los niveles en sangre disminuyen significativamente en el grupo alimentado con Macrogard, así como en el grupo alimentado con un aporte adicional de vitamina C, aunque no significativamente en este caso. Sin embargo, los niveles de cortisol aumentan en el grupo alimentado con un aporte adicional de vitamina E respecto a los otros grupos.

En cuanto a los resultados de los análisis histológicos, se realizó una comparación de la presencia de sanguinicólidos y trichodínidos y quistes de epiteliocistis en branquia en una muestra de cada uno de los grupos experimentales mediante análisis semicuantitativo de las intensidades. Como resultados se observa una tendencia a una menor presencia de estos parásitos en los grupos alimentados con macrogard y vitamina E, respecto a los otros grupos, no siendo las diferencias significativas.

Así, parece que la suplementación con Macrogard confiere una protección adicional de los peces frente al estrés y las enfermedades parasitarias e infecciosas, aumentando de forma significativa el nivel de inmunoglobulinas sanguíneas.

Estos resultados serán objeto de una comunicación en el próximo congreso nacional de acuicultura, comunicación que será enviada a esta Secretaría General.

3.2. Ensayo con atractantes

Este objetivo no ha podido ser ejecutado por los motivos anteriormente expuestos. En el momento en que finalicen las obras de remodelación anteriormente comentadas se procederá a la ejecución de la citada prueba, comunicándose los resultados obtenidos a esta Secretaría General.

4. Estudio de la bisexualidad juvenil de dentón en la zona de Baleares

Durante los 3 años de duración del presente proyecto, se muestrearon un total de 225 dentones de peso igual o inferior a 1,5 kgs, con el fin de asegurar la presencia de juveniles en la muestra

5. Atlas histológico del dentón

Se ha realizado la toma de muestras prevista en el presente proyecto, a partir de ejemplares de engorde en jaulas criados en nuestras instalaciones del Port d'Andratx y se ha realizado el procesado de las muestras para su observación al microscopio óptico y electrónico, en el caso concreto del sistema digestivo (SEM, TEM).

RESULTADOS

5. Estudio de la estandarización de la cría larvaria

5.1. Prueba de ajustar la densidad larvaria en la fase de rotífero:

Las supervivencias en esta prueba han sido muy bajas, que atribuimos al manejo al que fueron sometidos las larvas durante la fase lecitotrófica para efectuar los conteos por volumetría. Las mayores supervivencias se dieron en los tanques en los que se habían estabulado 50 larvas/L. Se está procediendo a la elaboración de resultados estadísticos. De todos modos, consideramos que sería interesante la repetición de la prueba debido a las bajas supervivencias obtenidas en todos los tanques.

5.2. Estudio al SEM y TEM del desarrollo larvario.

Las muestras han sido enviadas a la UAB (Fac. Veterinaria) para su procesado. Se está procediendo al estudio de las mismas. En el momento en que se dispongan de datos, se comunicarán a esta Secretaría General.

5.3. Prueba de la apertura de la boca.

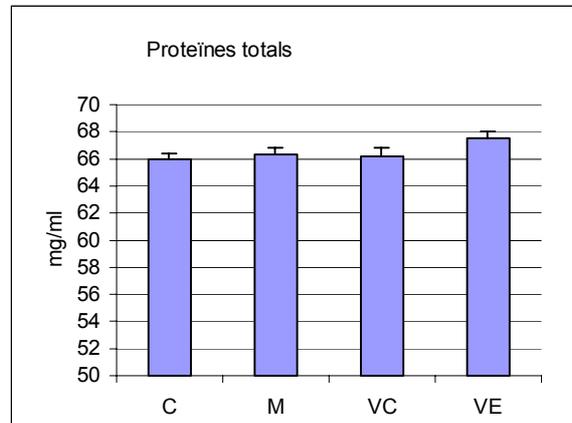
Esta prueba no ha podido ser ejecutada debido a la demora que presentan las obras de remodelación de nuestra planta de cría y engorde. En el momento en que éstas estén finalizadas se ejecutará la experiencia programada y se comunicarán los resultados a esta Secretaría General.

Estudio de nutrición y diseño de piensos experimentales

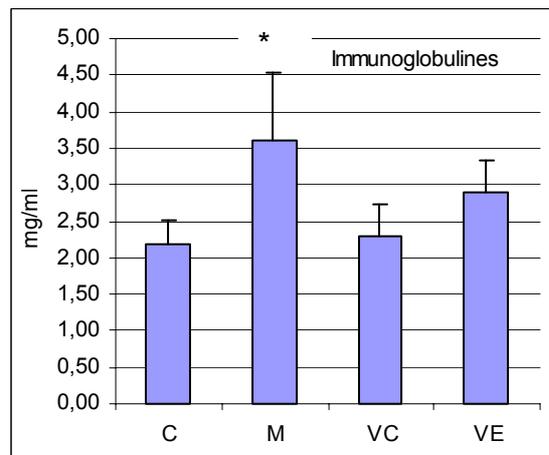
Los resultados biométricos están siendo procesados, siendo los resultados de

los análisis sanguíneos los siguientes:

Muchas de las muestras presentaban hemólisis generalizada, debido a lo cual sólo se pudieron realizar parte de la analítica prevista. Se determinaron los niveles de inmunoglobulinas, proteínas totales y cortisol. Los resultados se muestran en las gráficas 1, 2 y 3.

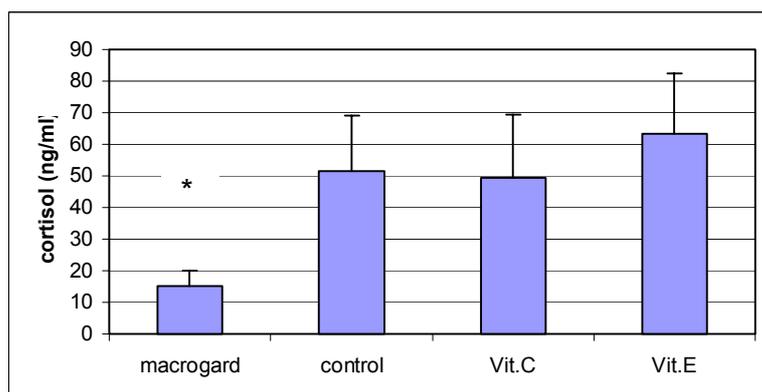


Las proteínas totales no cambian significativamente en los diversos grupos, observándose un ligero aumento en el grupo alimentado con vitamina E.



Sin embargo, las inmunoglobulinas suben significativamente en el grupo M, alimentado con un aporte adicional de Macrogard, y también suben, aunque no significativamente, en los otros grupos alimentados con un aporte de inmunoestimulantes respecto a la dieta control.

Respecto al cortisol, los niveles en sangre disminuyen significativamente en el



grupo alimentado con Macrogard, así como en el grupo alimentado con un aporte adicional de vitamina C, aunque no significativamente en este caso. Sin embargo, los niveles de cortisol aumentan en el grupo alimentado con un aporte adicional de vitamina E respecto a los otros grupos.

En cuanto a los resultados de los análisis histológicos, se realizó una comparación de la presencia de sanguinicólidos y trichodínidos y quistes de epiteliocistis en branquia en una muestra de cada uno de los grupos experimentales mediante análisis semicuantitativo de las intensidades. Como resultados se observa una tendencia a una menor presencia de estos parásitos en los grupos alimentados con macrogard y vitamina E, respecto a los otros grupos, no siendo las diferencias significativas.

Así, parece que la suplementación con Macrogard confiere una protección adicional de los peces frente al estrés y las enfermedades parasitarias e infecciosas, aumentando de forma significativa el nivel de inmunoglobulinas sanguíneas.

Estos resultados serán objeto de una comunicación en el próximo congreso nacional de acuicultura, comunicación que será enviada a esta Secretaría General.

6. Estudio de la bisexualidad juvenil de dentón en la zona de Baleares

De los 225 ejemplares muestreados, en el momento actual, se conoce la edad de 169 ejemplares, mientras que los restantes están siendo procesados sus otolitos para su lectura. Por tanto, se han leído el 75% de los otolitos de la muestra. Aquellos ejemplares que presentaban una lectura de otolitos con edades inferiores a 2 años correspondían a 91 ejemplares (un 54% de la muestra de edad conocida), que corresponden a aquellas clases de edad en que el estudio histológico de las gónadas de ejemplares en cautividad ha dado lugar a la detección de hermafroditas juveniles.

De los 225 ejemplares muestreados de forma global 112 han resultado ser hembras, 92 son machos, 6 hermafroditas y 15 inmaduros indeterminados, es decir, todavía no presentan la sexualidad definida al encontrarse la gónada en unas etapas muy iniciales de su desarrollo. Todos los ejemplares hermafroditas e indeterminados presentan una edad igual o inferior a un año, siendo las gónadas inmaduras. Por tanto, se confirma la presencia de hermafroditismo rudimentario en el dentón en el medio natural.

Estos resultados serán objeto de una publicación científica, a ser posible de ámbito internacional. Cuando esta publicación se realice, se informará oportunamente a esta Secretaría General, y se le enviará una copia de la misma.

5. Atlas histológico del dentón

Actualmente, se han procesado todas las muestras del aparato digestivo y se ha realizado su descripción anatómica, histológica e histoquímica (carbohidratos y proteínas), así como el estudio ultraestructural previsto del aparato digestivo, tanto de barrido como de transmisión. Los resultados obtenidos se han elaborado en forma de publicación científica, que hemos

enviado a la revista Journal of Morphology. El título de la misma es el siguiente: “ A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae)” y los autores son: Maite Carrassón, Amalia Grau, Luis R. Dopazo, Silvia Crespo. En este momento el trabajo se encuentra en revisión y estamos pendientes de la aceptación para su publicación. Adjuntamos una copia del mismo como anexo al presente informe. En el momento en que esta publicación se haya producido se enviará a esta Secretaría General copia de la misma.

Se adjuntan los resultados de la distribución de carbohidratos y proteínas y la descripción anatómica del digestivo (en inglés).

GROSS MORPHOLOGY

Figure 1(a) shows the digestive tract of *Dentex dentex* removed from the body cavity with some mesenteries cut so that it can be displayed better. The length of the alimentary tract is relatively short—approximately 80% of the standard body length. The short, wide oesophagus, is followed by the caecal type stomach. Three to four pyloric caeca of variable length (Fig. 1(b,c)) are visible between the stomach and the anterior intestine. This portion of the gut first runs dorsocaudally towards the distal part of the body cavity reaching up to 2/3 of its length and, after bending, runs cranially. After a second loop, it narrows to form the posterior intestine which finally widens to form a short rectum which ends in the anal sphincter. The ileorectal valve separates the posterior intestine from the rectum. An intense orange pigmentation is apparent throughout the whole length of the intestine, more evident in the pyloric caeca and anterior part of the gut.

Fig. 1(a). Digestive tract of *dentex dentex*



Fig. 1(b,c). Pyloric caeca of *Dentex dentex*. (b) 3 pyloric caeca. (c) 4 pyloric caeca



HISTOCHEMICAL OBSERVATIONS

Tables II-III show the histochemical reactions (carbohydrates and proteins) of the epithelial cells (EC), goblet cells (GC) and gastric glands (GG) of the digestive tract of *Dentex dentex*. No histochemical differences were detected between intestine (either anterior or posterior), pyloric caeca and rectum mucosae. The epithelium of the stomach is rich in neutral mucosubstances. These are also present, although with a weaker intensity, in the GG and the oesophagous mucosa. No histochemical differences were found between neck cells of the GG and the columnar EC of the stomach.

GC of the oesophagous, anterior intestine and caeca are rich in neutral mucosubstances, which exhibit much weaker intensity in the posterior intestine and rectum. Levels of carboxylated and sulphated mucosubstances are also high in GC located throughout the whole length of the digestive tract. Proteins are absent from most GC, whilst they are dominant in the GG. They are also present, although with a weaker intensity, in the whole tract mucosa, glycoproteins being dominant in the oesophagus and stomach.

TABLE II. Carbohydrates and proteins in epithelia of the digestive tract of *Dentex dentex*

	Oesophagus	Stomach	Caeca	Intestine	Rectum
NM	1	3	2	2	2
CM	1	1	1	1	1
SM	0	1	1	1	1
GP	2	2/3	1/2	1/2	1/2

P	1	1/2	1/2	1/2	1/2
---	---	-----	-----	-----	-----

Intensity of the reaction: 0, negative; 1, weak; 2, moderate and 3, intense; NM, neutral mucosubstances; CM, carboxylated mucosubstances; SM, sulphated mucosubstances; GP, glycoproteins; P, proteins in general.

TABLE III. Carbohydrates and proteins in the goblet cells of the oesophagus, intestine, caeca, and rectum and the gastric glands of the stomach of *Dentex dentex*

	Oesophagus	Stomach	Caeca	Anterior Intestine	Posterior Intestine	Rectum
NM	3	1	3	3	1	1
CM	3	0	3	3	3	3
SM	3	0	2	2	2	2
GP	0	1	0	0	0	0
P	0	2	0	0	0	0

Intensity of the reaction: 0, negative; 1, weak; 2, moderate and 3, intense; NM, neutral mucosubstances; CM, carboxylated mucosubstances; SM, sulphated mucosubstances; GP, glycoproteins; P, proteins in general

Connective and muscular layers contain mainly proteins and neutral mucosubstances. Sulphomucines and acid mucosubstances are also present in the connective tissue and the serosa of the whole tract. Neutral mucosubstances and glycoproteins are dominant in the serosa, and the stratum compactum is particularly rich in neutral mucosubstances. The granules of EGC, which are especially abundant in the submucosa of the gut, contain mainly proteins.

CONCLUSIONES

De acuerdo con el cronograma que se planteó para la ejecución del proyecto, el grado de ajuste con los objetivos fijados en el mismo es de un 75%. De los 5 objetivos previstos 2 se han desarrollado completamente, y 2 de manera parcial, realizándose un mayor esfuerzo del previsto inicialmente en el proyecto de compra y captura de ejemplares para su estudio gonadal y descripción del patrón morfológico de la especie en el medio natural. La causa del incompleto desarrollo de todos los objetivos y subobjetivos planteados en la propuesta inicial es debida a la demora que han presentado las obras de reforma de nuestras instalaciones de cría y engorde ubicadas en el port d'Andratx, demora que ha impedido la ejecución de determinados subobjetivos de cría y destete por falta de la infraestructura necesaria.

DIFUSIÓN

Los resultados del ensayo de suplementación con vit C, vit. E y macrogard serán objeto de una comunicación en el próximo Congreso Nacional de Acuicultura, a celebrar en Gandía, a modo de panel, bajo el título: Efecto de la suplementación de la dieta de juveniles de dentón con vitamina E, C y β -1,3/1,6 glucanos sobre los niveles de cortisol e inmunoglobulinas séricas. Los autores son: Grau, A; Pastor, E; Tort, L.; Jover, M.; Padrós, ; F; Crespo, S.

Los resultados del estudio histológico y ultraestructural del tracto digestivo del dentón se han elaborado en forma de publicación científica, que hemos enviado a la revista Histology & Histopathology. El título de la misma es el siguiente: “ A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae)” y los autores son: Maite Carrassón, Amalia Grau, Luis R. Dopazo, Silvia Crespo. En este momento el trabajo ha sido aceptado para su publicación. En el momento en que esta publicación se haya producido se enviará a esta Secretaría General copia de la misma.

Se prevé efectuar una publicación de los resultados obtenidos del estudio de la bisexualidad juvenil. En el momento en que ésta se produzca, se comunicará a la Secretaría General.

INCIDENCIAS DE DESARROLLO

La causa del incompleto desarrollo de todos los objetivos y subobjetivos planteados en la propuesta inicial es debida a la demora que han presentado las obras de reforma de las instalaciones de cría y engorde ubicadas en el Port d'Andratx, demora que ha impedido la ejecución de determinados subobjetivos de cría y destete por falta de la infraestructura necesaria. En el momento en que estas instalaciones estén finalizadas, cuya ejecución se encuentra en su fase final, se procederá a la ejecución de los mismos, comunicándose a esta Secretaría General los resultados obtenidos.

- CA de Canarias. Subproyecto Hurta

OBJETIVOS INICIALES

1. Reproducción de hurta en cautividad.
 - 1a. Realizar el estudio de la biología de la hurta en las Islas Canarias
 - 2a. Capturar un stock de ejemplares salvajes, y estabularlo en condiciones adecuadas que permitan la maduración sexual en cautividad
 - 3a. Realizar un estudio histológico del desarrollo de las gónadas durante el proceso de maduración sexual.
 - 4a. Determinar el comportamiento reproductor: fertilidad, pauta y secuencia de emisión de huevos, calidad y variación en el tiempo.
 - 5a. Realizar el estudio histológico del desarrollo embrionario.
2. Cultivo larvario.
 - 2a. Desarrollar de las técnicas básicas para llevar a cabo esta fase de cultivo

OBJETIVOS REALIZADOS

Se han realizado parcialmente los objetivos siguientes:

- Estudio de la biología de la hurta en las Islas Canarias
- Estudio histológico del desarrollo de las gónadas durante el proceso de maduración sexual.
- Determinación del comportamiento reproductor: fertilidad, pauta y secuencia de emisión de huevos, calidad y variación en el tiempo

METODOLOGÍA

Con el fin de obtener el material de estudio, entre los meses de enero y diciembre de 2002, con periodicidad aproximadamente quincenal, se llevaron a cabo muestreos de desembarco de capturas comerciales realizadas en aguas de Gran Canaria. Además, se realizaron pescas experimentales en aguas de Fuerteventura en el B/O Taliarte (Tabla 1). En total se recopilieron 188 ejemplares de hurta o sama roquera.

TABLA 2. LISTADO DE MUESTREOS BIOLÓGICOS DE HURTA *PAGRUS AURIGA* DURANTE EL AÑO 2002.

FECHA	PROCEDENCIA	ISLA	NÚMERO
28/01/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	16
04/02/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	14
04/03/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	16
05/06/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	14
30/06/02	PLAYA DE BARLOVENTO	FUERTEVENTURA	3
06/07/02	PLAYA DE BARLOVENTO	FUERTEVENTURA	6
19/07/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	3
10/09/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	1
20/09/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	19
26/09/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	1
30/09/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	5
15/10/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	20
16/10/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	17

19/10/02	PLAYA DE BARLOVENTO	FUERTEVENTURA	5
23/11/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	35
29/11/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	8
30/12/02	CASTILLO DEL ROMERAL	GRAN CANARIA	5

El estudio de las muestras se efectuó en el Laboratorio de Biología Pesquera del Instituto Canario de Ciencias Marinas. Los análisis fueron realizados por dos investigadores, siempre los mismos, uno de los cuales tomó en los individuos los datos convenidos y el otro los registró en los estadillos confeccionados al efecto. Los ejemplares siempre fueron analizados en la condición fresca.

En cada ejemplar, se tomó la longitud total (1 mm), el peso total (0,1 g), el sexo (I, indiferenciado; M, macho; F, hembra; o I, intersexual), el estado de madurez (I, inmaduro; II, reposo; III, pre-puesta; IV, puesta; o V, post-puesta), y el peso de las gónadas (0,01 g).

Los aspectos biológicos considerados se refieren a la sexualidad, la reproducción y la talla y el peso. En lo que concierne a la sexualidad, se determinó el tipo sexual, se calculó la proporción entre sexos y se analizó la variación de sexos por tallas. En relación con la reproducción, se determinó el período reproductor y se estimó la talla media de primera maduración. Con referencia a la talla y el peso, se calcularon los rangos de las variables longitud total, peso total y peso.

El tipo sexual se determinó considerando los datos de sexo registrados. La proporción entre sexos o *sex-ratio* se estimó relacionando el número de machos con el de hembras. La variación de sexos según tallas se analizó contabilizando el número de individuos de cada sexo por clase de tallas.

El período reproductor se determinó siguiendo las variaciones temporales del índice gonadosomático (IGS), que se calcula para cada ejemplar como (Anderson y Gutreuter, 1983):

$$IGS = \left(\frac{P_g}{P_t} \right) \cdot 100,$$

donde: P_g es el peso de la gónada; y P_t es el peso total. La talla de primera madurez, longitud media a la cual el cincuenta por ciento de los individuos presentan actividad gonadal, fue estimada a partir de la ojiva de madurez sexual. Esta ojiva se construye al ajustar una curva sigmoideal simétrica a los valores porcentuales de individuos maduros (estados III, IV o V) por clase de talla (Pope *et al.*, 1983). La expresión matemática de la curva utilizada es (Saila *et al.*, 1988):

$$P = \frac{100}{1 + e^{-r(L-L_m)}},$$

donde: P es la proporción de individuos maduros en cada intervalo de tallas; L es la longitud media de cada intervalo; Lm es la longitud media de primera madurez y r el coeficiente de la relación entre P y L.

Los rangos de la longitud total, el peso total y el peso eviscerado fueron calculados estimando los valores mínimo y máximo de esas variables.

RESULTADOS

1. SEXUALIDAD

La proporción de sexos para el periodo de estudio de forma global (1:6,13) muestra que las hembras son significativamente más abundantes que los machos ($\chi^2 = 55,41 > \chi^2_{0,05;1} = 3,84$). La proporción de individuos de cada sexo varía con la talla (Figura 1). Los machos son significativamente más abundantes que los machos en longitudes inferiores y los machos en las superiores ($\chi^2 > \chi^2_{0,05;1} = 3,84$). Los intersexuales, poco frecuentes, se distribuyen en las tallas intermedias, de forma principal, entre los 400 y 510 mm de longitud total. De los 188 individuos analizados, 15 eran machos, 92 hembras y 5 intersexuales. Los 76 ejemplares restantes eran indiferenciados.

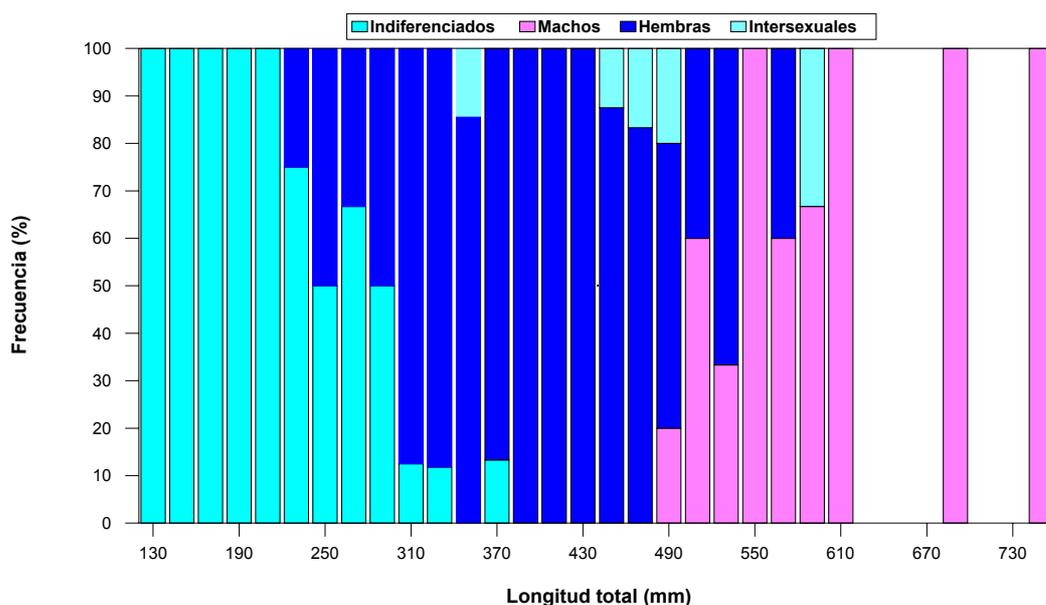


Figura 1. Proporción de sexos por clase de tallas para la hurta *Pagrus auriga* de las Islas Canarias.

2. REPRODUCCIÓN

Los valores mensuales del porcentaje de los estadios de madurez sexual muestran claras variaciones (Figura 2), encontrándose los correspondientes a individuos que presentan estados de prepuesta (III), puesta (IV) y postpuesta (V) en los meses comprendidos entre septiembre y marzo.

El índice gonadosomático (IGS) varía mensualmente (Figura 3), alcanzando los valores más elevados entre los meses de septiembre y febrero.

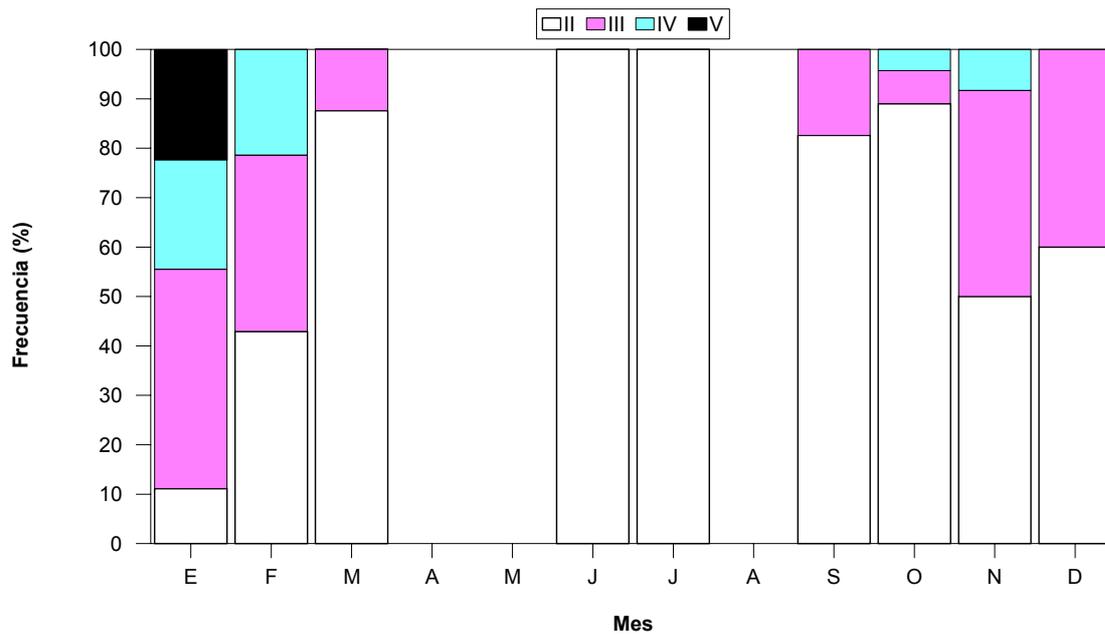


Figura 2. Variación mensual de los porcentajes de los estados de madurez sexual para la hurta *Pagrus auriga* de las Islas Canarias.

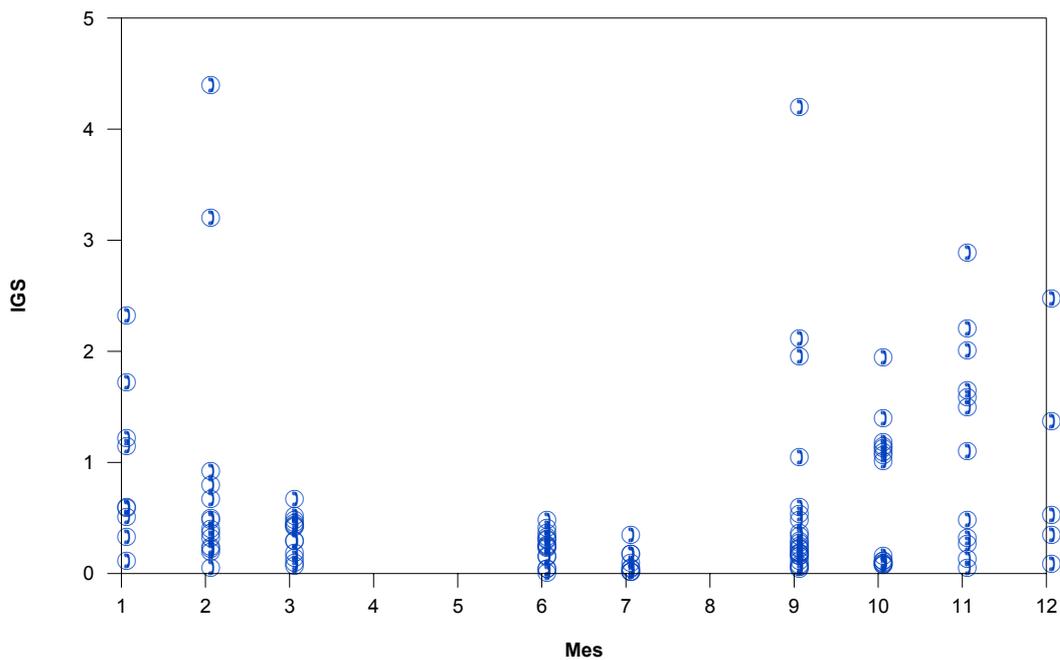


Figura 3. Variación mensual del índice gonadosomático (IGS) para la hurta *Pagrus auriga* de las Islas Canarias

La ojiva de madurez sexual estimada para la hurta se representa en la Figura 4. La talla media de primera madurez corresponde a los 455 mm de longitud total. Se observaron diferencias significativas entre las tallas medias de ambos sexos (t -test, $t=9,76 > t_{0,05;38}=1,94$).

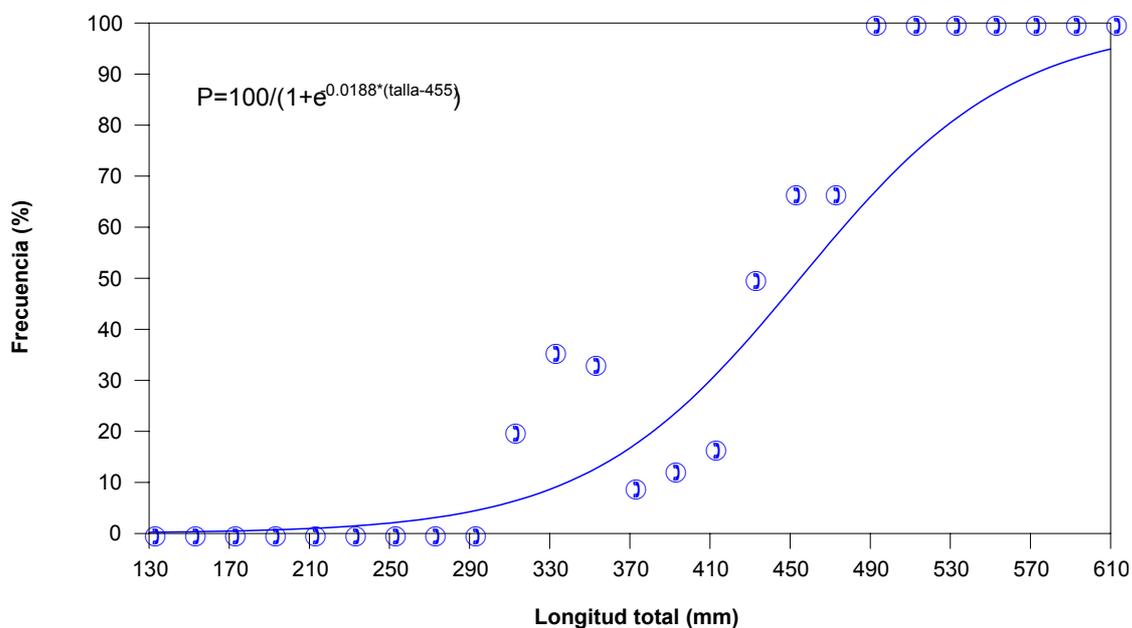


Figura 4. Ojivas de madurez sexual para la hurta *Pagrus auriga* de las Islas Canarias

2. Talla y peso

En la Tabla 2 se presentan los valores mínimos y máximos de las variables longitud total, peso total y peso eviscerado para indiferenciados, machos, hembras, intersexuales y todos los individuos.

Tabla 2. Rangos de las variables longitud total, peso total y peso eviscerado para la hurta *Pagrus auriga* de las Islas Canarias.

	LONGITUD TOTAL (MM)		PESO TOTAL (G)		PESO EVISCERADO (G)	
	MÍNIMO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÁXIMO
INDIFERENCIADOS	128	373	39,9	1079,0	39,0	1012,1
MACHOS	493	760	1216,0	8345,0	1024,1	8016,5
HEMBRAS	240	564	231,0	3492,0	175,4	3344,0
INTERSEXUALES	347	588	683,0	4400,0	670,0	4100,0
TOTAL	128	760	39,9	9345,0	39,0	8016,5

3. CONCLUSIONES PRELIMINARES

A lo largo del año 2002 se han realizado 25 muestreos biológicos sobre las capturas comerciales y mediante campañas pesqueras. Sin embargo, a pesar de este esfuerzo de recolección de ejemplares, no hemos obtenido hurtas de los meses de abril, mayo y agosto y tan solo 9 y 5 individuos de los meses de julio y diciembre respectivamente.

En base al análisis de estos resultados preliminares podemos extraer las siguientes conclusiones provisionales

El tipo sexual de la especie parece ser hermafroditismo proterogínico.

La proporción de sexos en el conjunto de la muestra analizada fue 1:6,13.

Las hembras muestran una predominancia en las tallas inferiores y los machos en las superiores.

El período reproductor parece estar comprendido entre los meses de septiembre y febrero.

La talla de primera madurez se situaría alrededor de los 400 y 500 mm de longitud total.

La longitud total de los ejemplares examinados varió entre 128 y 760 mm, el peso total entre 39,9 y 9345,0 g, y el peso eviscerado entre 39,0 y 8016,5 g.

- CA de Cataluña. Subproyecto Dentón

OBJETIVOS INICIALES

1. Incremento del stock de reproductores en el grupo coordinado de investigación de JACUMAR sobre el dentón, con el fin de disponer de al menos 2 stocks de reproductores (Comunidad de Murcia y Cataluña), y también para aumentar la variabilidad genética de los stocks. Para ello, en el CA-IRTA se llevará a cabo la estabulación y captura de individuos reproductores salvajes, así como también la estabulación de juveniles tanto salvajes como criados en cautividad.

1. Experimentación para la conservación de gametos femeninos a largo plazo mediante métodos de criopreservación. Se diseñarán métodos de crioconservación de oocitos, huevos no fertilizados y huevos embrionados. En el último año del proyecto, se combinarán estos resultados con los obtenidos por la Comunidad de Murcia para la crioconservación de esperma, con el fin de obtener una metodología completa para la criopreservación de gametos de dentón.

2. Durante la última fase del proyecto, cuando se disponga de un stock de reproductores suficientemente amplio, se llevarán a cabo pruebas de control hormonal a la puesta y de manipulación nutricional de los reproductores, con el fin de acortar el periodo de puesta de esta especie y aumentar la supervivencia larvaria. Estas metodologías para la optimización de las puestas del dentón se complementan muy especialmente con las que se llevarán a cabo por la CA de Valencia (adelantamiento del periodo de puesta).

3. Establecimiento de una secuencia alimentaria propia del dentón para aumentar la supervivencia larvaria. Se realizarán estudios detallados de las

tasas de captura, de ingesta y de selección de presas vivas, usando rotíferos de diferente talla y nauplios y metanauplios de *Artemia*

4. Estudios de requerimientos en ácidos grasos del dentón. Elaboración de enriquecedores mediante el uso de mezclas de aceites de pescado, fosfatidilcolina (como fuente de fosfolípidos) y vitaminas liposolubles. Con ello se pretende lograr niveles de DHA y vitaminas que permitan mejorar los resultados de crecimiento y supervivencia larvaria y evitar las malformaciones esqueléticas, respectivamente, durante el desarrollo larvario.

5. Comparación del cultivo intensivo frente al cultivo semiextensivo. En el último año de investigación se propone la comparación de los resultados obtenidos en cuanto a supervivencia y crecimiento del dentón usando estas dos técnicas de cultivo. Para el cultivo intensivo se aplicarán los conocimientos adquiridos durante los dos años previos de investigación (secuencia alimentaria y enriquecimiento de presas vivas). Para el cultivo semiextensivo, o "mesocosmos", se aplicarán los conocimientos adquiridos en experiencias previas llevadas a cabo en Grecia y en el propio centro de investigación.

OBJETIVOS REALIZADOS

Objetivo 1. Establecimiento de un stock de reproductores de diversos orígenes, tanto salvajes como de cultivo.

Objetivo 4. Establecimiento de una secuencia alimentaria propia del dentón a fin de aumentar la supervivencia larvaria.

Objetivo 5. Estudio de requerimientos en ácidos grasos del dentón. Elaboración de enriquecedores

Objetivo 6. Cultivo intensivo frente a cultivo semiextensivo

METODOLOGÍA

Objetivo 1. Establecimiento de un stock de reproductores de diversos orígenes, tanto salvajes como de cultivo.

Se iniciaron las experiencias a partir de un stock proveniente de Mallorca y estabulado en la piscifactoria Granja Piscícola Badía de Rosas (GPBRSA).

Dichos reproductores (31 individuos) se trasladaron al CA-IRTA. Gran parte del stock de hembras murió y fue necesario transportar nuevos reproductores (30 individuos) cedidos amablemente por la Dirección General de Pesca Marítima del Govern Balear y procedentes de la Estación de Acuicultura de Port Andraitx, con una menor talla y peso. Los reproductores se mantienen a temperatura y fotoperiodo naturales durante los meses de Septiembre a Marzo. En los meses de Abril a Agosto se introducen en la hatchery donde se programa un fotoperiodo 14hL : 10hO, una temperatura de 20 ± 1 °C y se alimentan con un pienso semihúmedo diseñado y fabricado en el CA-IRTA y que incluye en su composición sepia y pescado junto con vitaminas y un aceite enriquecido en n-3 HUFA.

Durante los años 2002 y 2003 los reproductores mantenidos en el CA-IRTA no dieron lugar a puestas (la gran mayoría fueron machos) por lo que se tuvo que

recurrir a puestas cedidas por el IEO de Murcia (Dra. abellan) y los objetivos 2 y 3 del proyecto no pudieron llevarse a cabo.

Durante esos dos años se hizo un nuevo acopio de reproductores a partir de JUVENILES salvajes pescados y engordados en las instalaciones del IMIDA (Murcia, Dr. García) que es el stock que actualmente permanece en el irta y del que se empezaron a obtener puestas en el año 2004

Objetivo 4. Establecimiento de una secuencia alimentaria propia del dentón a fin de aumentar la supervivencia larvaria.

Desde el día 2 al día 15 las larvas fueron alimentadas con rotíferos de la cepa Bs (169.3 ± 31.9 μ m de longitud) a densidades distintas (5, 10 y 15 rot/ml) dependiendo del tanque. Se tomaron muestras para estudiar el crecimiento en talla y peso seco, el contenido digestivo, la evaluación de posibles patologías y estudiar la composición bioquímica elemental los días 4, 6, 9, 12 y 15.

La ingestión de rotífero se evaluó al cabo de 2h de la primera alimentación de la mañana (los rotíferos se distribuían en 4 dosis a lo largo del día). con los siguientes resultados:

Cultivo larvario **2002**

Debido a la escasez de puestas a partir de los reproductores del CA-IRTA, se solicitaron 2 puestas al Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Murcia, que generosamente nos las donó. Una de las puestas llegó en buen estado al CA-IRTA el día 22 de Mayo (aprox. 100.000 huevos) eclosionando 2 días después y la otra puesta del 6 de Junio llegó al CA-IRTA (aprox. 100.000 huevos) en bastante mal estado eclosionando las larvas (con un alto grado de deformación de la notocorda) al día siguiente.

La primera puesta fue utilizada para los experimentos de densidades de rotífero y adelanto de la distribución de *Artemia* así como para el cultivo larvario general y obtención de juveniles.

La segunda puesta se empleó en el estudio del efecto de distintas dosis diarias de rotífero (2, 3, 4 dosis) sobre el crecimiento y supervivencia.

Los contenidos digestivos de las larvas alimentadas con distintas densidades de rotífero en el tanque se analizaron los días 4, 6, 10, 12 y 15. A fin de facilitar el recuento del número de rotíferos por digestivo se utilizó en todos los casos la técnica de aclaración con KOH 1% ya indicada en la memoria del año 2001.

Adelanto en la distribución de nauplios de *Artemia*

Una de las grandes diferencias del dentón con respecto a otros espáridos como la dorada es su gran voracidad y su rápido crecimiento. La técnica de cultivo larvario de dorada normalmente empleada indica que es necesario esperar hasta el día 15 para poder suministrar nauplios de *Artemia*. Sin embargo por las características del dentón arriba mencionadas nos parecía oportuno el estudio del efecto que el adelanto de la distribución de nauplios pudiera tener sobre el crecimiento de las larvas. Para ello se transfirieron aproximadamente la mitad de las larvas de los tanques L-2 y L-5, alimentados con 10 rot/ml, a los tanques L-7 y L-8 y se comenzó la distribución de nauplios a día 10 en lugar del día 15. Se hizo un estudio comparativo entre el crecimiento de las larvas de estos tanques con las de

los tanques de origen a la vez que se estudiaba el momento en que las larvas comenzaban a alimentarse con nauplios de *Artemia*.

Cultivo larvario 2003

Debido a la escasez de puestas a partir de los reproductores del CA-IRTA, se solicitaron 3 puestas al Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Murcia, que generosamente nos las donó. Las puestas se recibieron los días 25 de marzo (224.000 huevos), 14 de abril (225.000 huevos) y 23 de abril (210.000 huevos) en todos los casos la calidad de las puestas fue aceptable con un porcentaje de eclosión del 65.87%, 44% y 52.5% respectivamente.

Con estas puestas se llevaron a cabo los siguientes experimentos:

1.- Efecto de distintas dosis de suministro de rotífero en el crecimiento, supervivencia e ingestión de las larvas de dentón

Parte de los huevos procedentes de la puesta del 24/3/03 se distribuyeron homogéneamente en 6 cubiletes de malla (150 mm) de 50 litros de capacidad a razón de 4000 huevos por cubilete, otro grupo de 4000 huevos se mantuvo en un contenedor aparte con el fin de estimar el porcentaje de eclosión. En los cubiletes se llevó a cabo la incubación de los huevos y el posterior desarrollo larvario durante 15 días. A partir del día 3 de la eclosión se suministraron rotíferos a todos los cubiletes manteniendo siempre una densidad de 15 rot/ml considerada óptima en función de los resultados obtenidos en el 2002. Dos cubiletes recibieron 2 dosis diarias de rotífero (a las 10 y 18 horas) a fin de mantener esta densidad de 15 rot/ml, otros 2 cubiletes recibieron 3 dosis (10, 14 y 18 horas) y otros 2 recibieron 4 dosis (10, 12, 15 y 18 horas). El rotífero se enriqueció usando la emulsión preparada en el CA-IRTA y siguiendo la metodología ya mencionada en informes anteriores. La temperatura se mantuvo siempre en $19 \pm 1^\circ\text{C}$ y el fotoperiodo fue de 12hL:12hO. Las larvas se muestrearon los días 4, 6, 10, 12 y 15 de la eclosión estimándose la talla total, peso seco y contenido digestivo (recuento de los mastax de rotífero), se estimó también la supervivencia al final del experimento de 15 días de duración.

2.- Adelanto en la distribución de nauplios de *Artemia*

Al igual que en el año 2002 realizamos un experimento para comprobar el efecto del adelanto en la distribución de los nauplios de *Artemia* sobre el crecimiento de las larvas de dentón. Se usaron parte de los huevos de la puesta del 23/4/03.

Objetivo 5. Estudio de requerimientos en ácidos grasos del dentón. Elaboración de enriquecedores

Para el enriquecimiento, tanto del rotífero como de los nauplios de *Artemia*, se utilizó una emulsión fabricada en el CA-IRTA a base de aceite orbital de atún (rico en 22:6n-3, ac. docosahexanoico o DHA) y fosfolípidos.

El destete se llevó a cabo usando dietas comerciales (Proton y NRD, Inve) alrededor del día 30, sin ningún problema de aceptación.

Objetivo 6. Cultivo intensivo frente a cultivo semiextensivo

Para este estudio se utilizó la puesta del 14/4/03 de 225.000 huevos. De éstos, un total de 187500 se dispusieron en un tanque de 1500 litros cuando llegaron a fin de realizar allí la incubación y el cultivo larvario siguiendo la metodología de cultivo intensivo normalmente usada en el CA-IRTA, el resto (37500 huevos) se dispuso en otro tanque de 1500 litros que 2 semanas antes se había sembrado con fitoplancton (*Isochrysis galbana* T-Iso y *Nannochloropsis gaditana*) y con 19 millones de rotíferos de la cepa S-1 y 2 millones de la cepa Bs en el que se seguiría la tecnología de cultivo semiextensivo según lo publicado por Divanach (2000). La eclosión de los huevos fue muy desigual en ambos tanques un 16% en el intensivo y un 44% en el extensivo, quedando al final 30000 larvas y 16500 larvas respectivamente, lo que supone una densidad de 20 y 11 larvas/litro. Las larvas del tanque extensivo se mantuvieron sin ninguna adición de comida hasta el día 15 después de la eclosión, cuando alcanzaron los 6 mm de longitud y se comenzó la distribución de nauplios de *Artemia* enriquecidos, siempre siguiendo las indicaciones de cultivo extensivo llevado a cabo en Grecia. Las densidades de rotífero en el tanque se mantuvieron siempre muy elevadas. Además hizo aparición un copépodo harpacticóide del género *Tisbe* sp. (confirmado por el profesor J. Damiá del IMEDEA, Mallorca) que también sirvió de alimento a las larvas.

Las larvas del tanque intensivo se alimentaron siguiendo la pauta empleada en el CA-IRTA para el cultivo larvario del dentón, es decir rotífero Bs durante los primeros 5 días de alimentación, que comienza cuando las larvas tienen 3 días de edad, en una densidad de 15 rot/ml distribuidos en 2 dosis, seguido de rotífero S-1 desde el día 8 hasta el 15 en las mismas condiciones de densidad y dosis. Los nauplios de *Artemia* se adicionaron por primera vez a este tanque intensivo cuando las larvas tenían 12 días de edad.

El destete se llevó a cabo en los dos tanques al mismo tiempo (día 34 después de la eclosión), suspendiéndose la adición de *Artemia* a día 45. El día 40 se contaron el número de peces superviviente y se calculó el porcentaje de supervivencia siendo del 3.2% en el caso del cultivo intensivo (tanque N-1) y del 4.36% en el extensivo (tanque N-2).

Para la observación de los distintos tipos de deformaciones esqueléticas se utilizó la técnica de doble tinción de (Dingerkus, 1977) usando Alcian blue para teñir cartílago y Alizarin red para teñir el hueso.

RESULTADOS

Objetivo 1. Establecimiento de un stock de reproductores de diversos orígenes, tanto salvajes como de cultivo.

Los reproductores (31 individuos) procedentes de Mallorca se trasladaron al CA-IRTA con buenos resultados iniciales de puestas (año 2000). Las puestas del 2001 fueron inferiores en cantidad y calidad.

Durante los años 2002 y 2003 los reproductores mantenidos en el ca-irta no dieron lugar a puestas (la gran mayoría fueron machos).

Del stock que actualmente permanece en el irta se empezaron a obtener puestas en el año 2004

Objetivo 4. Establecimiento de una secuencia alimentaria propia del dentón a fin de aumentar la supervivencia larvaria.

En el año **2001** se obtuvieron 15 puestas entre los días 15 de Mayo y 5 de Junio, del total de huevos obtenidos sólo el 22% fue de buena calidad. Las características de las puestas se resumen en la siguiente tabla:

Huevo		Max - Min
Diámetro (mm)	1.052±0.027	1.125 – 0.95
Peso seco (µg)	44.81±4.37	53.00 – 34.92
Volumen huevo (mm ³)	0.611±0.047	0.746 – 0.449
Volumen gota de grasa (mm ³)	0.0063±0.0008	0.0082 – 0.0042
Corion		
Peso seco (µg)	6.28±1.52	8.3 – 3.7
Vitelo		
Diámetro (mm)	1.052±0.027	1.125 – 0.95
Peso seco (µg) ^a	38.53	
Volumen vitelo (mm ³)	0.611±0.047	0.746 – 0.44

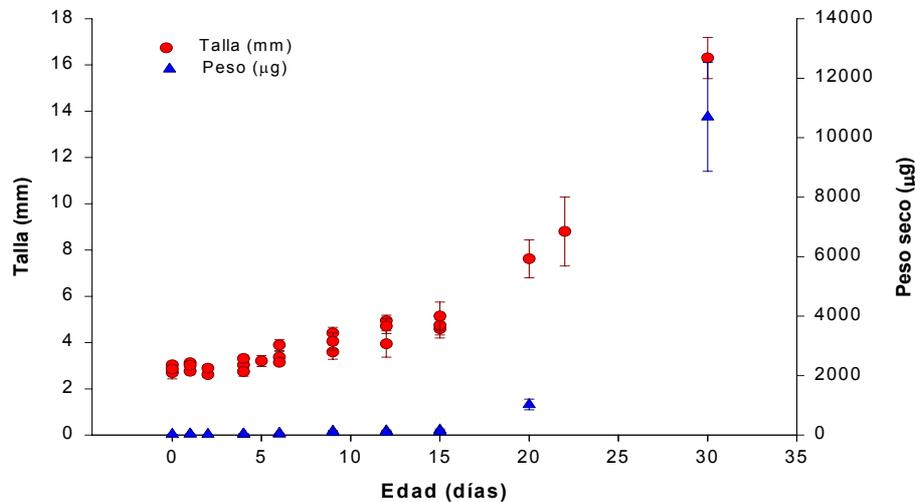
^a Calculado = peso del huevo – peso del corion

Las biometrías de las larvas antes de la primera alimentación fueron las siguientes:

Larva eclosión		Max Min
Talla (mm)	2.78±0.35	3.187 – 1.875
Peso seco (µg)	31.68±5.97	36.45 – 22.92
Vol. Vitelo (mm ³)	0.115±0.044	0.243 – 0.055
Vol. Gota grasa (mm ³)	0.0039±0.001	0.0082 – 0.0035
Larva día 1		
Talla (mm)	2.98±0.18	3.25 – 2.50
Peso seco (µg)	34.51±10.56	54.76 – 24.00
Vol. Vitelo (mm ³)	0.047±0.036	0.186 – 0.0102
Vol. Gota grasa (mm ³)	0.0033±0.0005	0.0035 – 0.001
Larva día 2		
Talla (mm)	2.79±0.18	3.19 – 2.44
Peso seco (µg)	27.35±3.73	24.00 – 32.00
Vol. Vitelo (mm ³)	0.008±0.002	0.0102 – 0.0047
Vol. Gota grasa (mm ³)	0.002±0.0017	0.0035 – 0.00007

Desde el día 2 al día 15 las larvas fueron alimentadas con rotíferos de la cepa Bs (169.3±31.9 µm de longitud) a densidades distintas (5, 10 y 15 rot/ml) dependiendo del tanque. Se tomaron muestras para estudiar el crecimiento en talla y peso seco, el contenido digestivo, la evaluación de posibles patologías y estudiar la composición bioquímica elemental los días 4, 6, 9, 12 y 15.

El crecimiento en talla y peso seco fue el siguiente ($LT = 2.21 e^{0.0647x \text{ edad}}$; $PS = 6.24 e^{0.25x \text{ edad}}$):



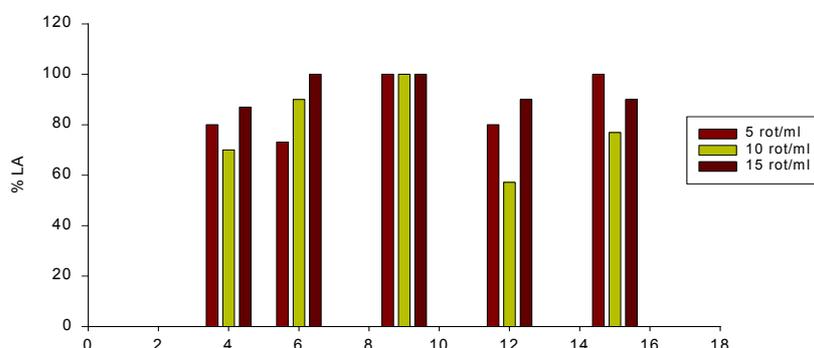
La ingestión de rotífero se evaluó al cabo de 2h de la primera alimentación de la mañana con los siguientes resultados:

Edad	Peso seco (µg)	Nº Medio rot (2h)	Max - Min	Ingestión (µg/h)	Rot/ml
4	33.90	6.81	13 - 1	0.85	5
4	27.80	7.36	16 - 2	0.92	10
4	39.50	6.60	13 - 1	0.83	15
6	43.20	10.95	20 - 2	1.37	5
6	40.00	16.44	27 - 4	2.06	10
6	62.00	8.30	29 - 1	2.21	15
9	100.00	22.31	42 - 4	2.79	5
9	86.40	15.95	55 - 1	1.99	10
9	133.30	17.64	39 - 1	2.21	15
12	95.00	22.38	56 - 1	2.80	5
12	116.10	3.33	8 - 1	0.42	10
12	145.00	16.43	56 - 1	2.05	15
15	130.00	15.20	29 - 1*	3.40	5
15	171.70	11.00	25 - 2	2.12	10
15	105.00	9.33	26 - 2*	1.99	15

- Se introduce rotífero S-1

Como se observa en la tabla, el número máximo de rotíferos ingeridos es similar para todas las larvas de la misma edad, independientemente de la densidad de rotíferos en el tanque, lo que indica que las larvas se alimentan hasta llenar por completo su tubo digestivo. La densidad de rotífero en el tanque únicamente permite aumentar el porcentaje de larvas alimentadas

(%LA), especialmente en los primeros días de alimentación, como se observa en la figura siguiente:



La mortalidad más elevada se detectó en torno a los 10-12 días, el resultado del análisis microbiológico del agua de cultivo nos indicó una excesiva presencia de bacterias vibrionáceas debida a arrastres procedentes del rotífero. Un meticuloso lavado del rotífero con agua dulce antes de dárselo a las larvas permitió reducir considerablemente la mortalidad larvaria. Los resultados finales de supervivencia (a día 50) fueron del 1.7 - 3.2%, con una elevada tasa de crecimiento (al cabo de 6 meses de la eclosión los alevines obtenidos pesaban ya en torno a los 100 gramos).

Todos los resultados obtenidos este año deberán comprobarse en el 2002 y 2003 al no haberse podido contar con réplicas en el 2001.

Cultivo larvario **2002**

Los resultados obtenidos en cuanto a crecimiento e ingestión se muestran en la tabla 8 y Fig. 2

Tabla 8.- Pesos secos y contenidos digestivos (nº medio, max y min de rotíferos) de los distintos grupos experimentales a los 4, 6, 10, 12 y 15 días de edad

Edad	Peso seco (μg)	No. medio rot (2h)	Max-Min	Rot/ml
4	21.04 \pm 2.02	2.83 \pm 3.36	10-1	5
4	23.15 \pm 2.60	3.65 \pm 5.47	22-1	10
4	21.19 \pm 4.14	6.63 \pm 8.76	37-1	15
6	22.84 \pm 4.10	4.13 \pm 5.23	22-1	5
6	26.59 \pm 3.92	7.05 \pm 8.10	25-1	10
6	28.92 \pm 5.16	10.84 \pm 16.01	80-1	15
10	42.77 \pm 3.03	9.94 \pm 6.75	25-1	5
10	48.73 \pm 5.45	10.74 \pm 9.17	44-1	10
10	64.00 \pm 14.75	12.03 \pm 7.93	29-1	15
12	58.71 \pm 3.54	17.93 \pm 13.24	51-1	5
12	70.06 \pm 24.17	19.82 \pm 21.72	79-1	10
12	71.12 \pm 10.12	26.06 \pm 13.98	59-4	15
15	96.33 \pm 21.99	35.77 \pm 24.10	91-1	5
15	112.07 \pm 10.65	39.75 \pm 22.89	115-2	10
15	177.69 \pm 40.35	62.22 \pm 27.64	142-25	15

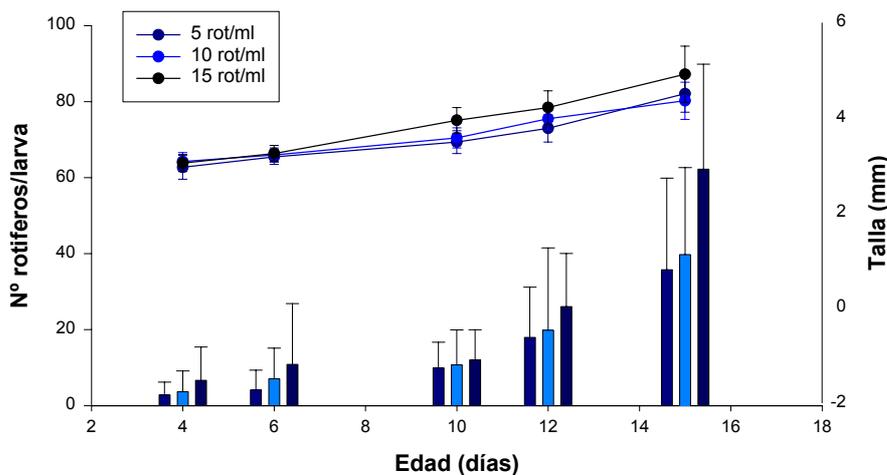


Fig. 2.- Crecimiento en talla y contenidos digestivos observados en los 3 grupos experimentales a lo largo del desarrollo larvario

A diferencia del año 2001, las larvas alimentadas con 15 rot/ml (tanques L-3 y L-6) crecieron y consumieron un mayor número de rotíferos que las de los otros dos grupos. La comprobación estadística se realizó usando el paquete SuperANOVA para MacIntosh. Se decidió hacer un ANOVA de 2 factores ya que tanto la edad de las larvas (4, 6, 10, 12 y 15 días) como la densidad de rotíferos en el tanque (5, 10 y 15 rot/ml) podrían haber influido en el crecimiento de talla y peso de las larvas. Los resultados del estadístico F y de la probabilidad estadística P para el crecimiento en talla y peso y para el contenido digestivo en rotíferos/larva se muestran en la tabla 9.

Tabla 9.- Resultados del estadístico F y del valor de probabilidad P del ANOVA de 2 factores (edad y rot/ml) efectuado para evaluar las diferencias en talla, peso seco y contenido digestivo de las larvas de dentón alimentadas con distintas densidades de rotíferos en el tanque a lo largo del desarrollo larvario (N = 528; g.l. = grados de libertad)

	g.l.	TALLA		PESO SECO		ROTÍFEROS INGERIDOS	
		F	P	F	P	F	P
Edad	4	441	0.0001	120	0.0001	145	0.0001
Rot/ml	2	47.43	0.0001	14.26	0.0001	18.91	0.0001
Edad * Rot/ml	8	7.28	0.0001	6.93	0.0001	4.59	0.0001

Después de efectuar el análisis de varianza se hizo además un test de Tukey para el estudio de las diferencias encontradas dando lugar a los siguientes resultados

Talla

El crecimiento en talla es distinto para todas las edades estudiadas (4 (a), 6(b), 10(c), 12(d), 15(e)), sin embargo para las densidades de rotífero utilizadas en el estudio, el crecimiento en talla es igual para las alimentadas con 5 y 10 rot/ml y sólo las alimentadas con 15 rot/ml muestran un crecimiento mayor: 5 (a), 10 (a), 15 (b)

Peso seco

El crecimiento en peso seco es igual para las larvas de 4 y 6 días de edad y para las larvas de 10 y 12 días de edad, las larvas de 15 días son las que muestran un crecimiento radicalmente distinto al resto. Expresado con el código de letras habitual sería : 4 (a), 6 (a), 10 (b), 12 (b), 15 (c) . Con respecto a la densidad de rotífero empleada en el estudio, al igual que en el caso del crecimiento en talla, sólo las larvas alimentadas con 15 rot/ml muestran un crecimiento significativamente mayor que las alimentadas con 5 y 10 rot/ml : 5 (a), 10(a), 15 (b)

Rotíferos ingeridos

Los resultados en cuanto a la incidencia alimentaria (% de larvas con al menos 1 rotífero en el digestivo) se muestran en la Fig. 3.

Las larvas de 4, 6 y 10 días muestran un contenido digestivo similar y distinto de las larvas de 12 días, las de 15 días de edad son radicalmente distintas del resto, el código de letras sería : 4(a), 6 (ab), 10 (b), 12 (c), 15 (d). En lo que se refiere a la densidad de rotífero, al igual que en los casos anteriores sólo las larvas alimentadas con 15 rot/ml muestran un mayor número de rotíferos ingeridos que las alimentadas con 5 y 10 rot/ml : 5 (a), 10 (a), 15 (b)

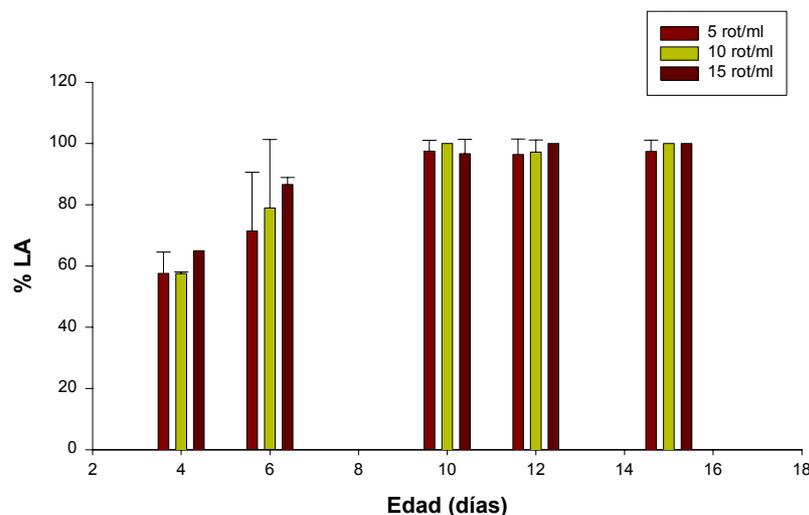


Fig. 3.- % larvas con alimento en el digestivo (%LA) a lo largo del crecimiento y con las 3 densidades de alimento ensayadas

Se ha tenido en cuenta también la ingestión de hembras ovígeras de mucho mayor tamaño que el resto, dado el elevado contenido digestivo de huevos no digeridos, este dato nos indica la selección que hace la larva por presas de mayor tamaño y nos puede dar una referencia de cuando es posible empezar a suministrar nauplios de *Artemia* (Fig. 4)

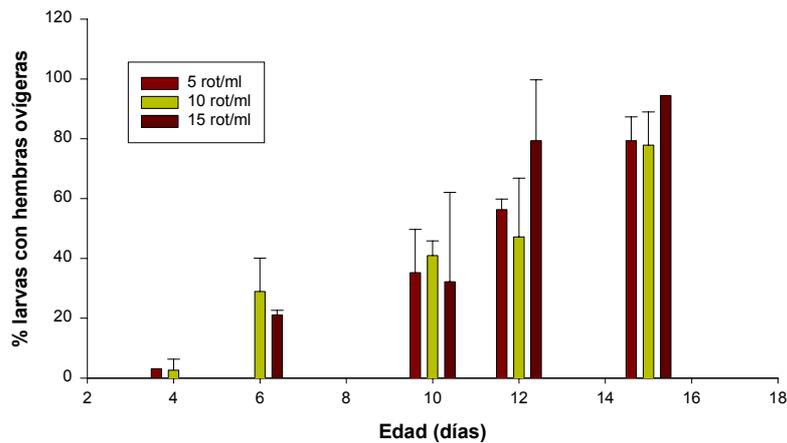


Fig. 4.- Porcentaje de larvas con hembras ovígeras de rotífero en el digestivo a lo largo del desarrollo larvario y para las 3 densidades de presas ensayadas.

Al igual que con la talla, peso e ingestión de rotíferos, se procedió a realizar un análisis de varianza de 2 factores con el fin de ver si existían diferencias significativas en función de la edad y de la densidad de presas ensayadas. Los resultados de los valores de F y P se muestran en la tabla 10

Tabla 10.- Resultados del estadístico F y del valor de probabilidad P del ANOVA de 2 factores para el % de larvas alimentándose (LA) y el % de hembras ovígeras de rotífero en el digestivo (N = 15; g.l. = grados de libertad; NS = No significativo)

	g.l.	% LA		% H.Ov	
		F	P	F	P
Edad	4	26.26	0.0001	43.09	0.0001
Rot/ml	2	1.16	0.39 NS	1.86	0.19 NS
Edad * Rot/ml	8	0.34	0.94 NS	1.52	0.23 NS

Se observaron diferencias significativas del % de larvas alimentándose en función de la edad. Los resultados del test de Tukey indican que las larvas de 4 (a), y 6 (b) días de edad muestran un menor número de larvas alimentándose en comparación con las larvas de 10, 12 y 15 días de edad (c). No se encontraron diferencias significativas (P = 0.39) en cuanto a porcentaje de larvas alimentándose cuando se analizan las densidades de rotífero empleadas. No hay efecto de la densidad de presa en cuanto a la captura por parte de las larvas. Lo mismo ocurre en lo que se refiere al % de larvas con hembras ovígeras de rotífero en el digestivo, aunque la presencia de éstas sí cambia en función de la edad de las larvas aumentando a lo largo del desarrollo larvario (4 (a), 6 (a), 10 (b), 12 (c), 15 (d)).

Adelanto en la distribución de nauplios de *Artemia*

Una de las grandes diferencias del dentón con respecto a otros espáridos como la

dorada es su gran voracidad y su rápido crecimiento. La técnica de cultivo larvario de dorada normalmente empleada indica que es necesario esperar

hasta el día 15 para poder suministrar nauplios de *Artemia*. Sin embargo por las características del dentón arriba mencionadas nos parecía oportuno el estudio del efecto que el adelanto de la distribución de nauplios pudiera tener sobre el crecimiento de las larvas. Para ello se transfirieron aproximadamente la mitad de las larvas de los tanques L-2 y L-5, alimentados con 10 rot/ml, a los tanques L-7 y L-8 y se comenzó la distribución de nauplios a día 10 en lugar del día 15. Se hizo un estudio comparativo entre el crecimiento de las larvas de estos tanques con las de los tanques de origen a la vez que se estudiaba el momento en que las larvas comenzaban a alimentarse con nauplios de *Artemia*. Los resultados en cuanto a talla, peso seco y larvas alimentándose con nauplios se presentan en la tabla 11

	g.l.	TALLA		PESO	
		F	P	F	P
Edad	3	40.83	0.0001	20.36	0.0001
Tanque	1	12.48	0.0005	1.83	0.19 NS
Edad * Tanque	3	0.07	0.93 NS		

Al igual que en los casos anteriores, a fin de evaluar el efecto del adelanto de la distribución de nauplios de *Artemia* sobre el crecimiento en talla y peso se efectuó un ANOVA de 2 factores (edad : 12, 15, 18 y 20 días y tanque : L-2 y L-5 frente a L-7 y L-8). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12

Tanque	Edad	Talla (mm)	Peso (μ g)	% con NA
L-7	12	3.98 \pm 0.33	49.29 \pm 5.05	25.00
L-8	12	4.06 \pm 0.28	90.83 \pm 1.18	6.67
L-7	15	4.60 \pm 0.34	118.67 \pm 18.04	41.20
L-8	15	4.86 \pm 0.39	160.67 \pm 52.80	46.67
L-7	18	5.14 \pm 0.51	212.00 \pm 8.49	53.33
L-8	18	5.24 \pm 0.57	280.00 \pm 17.68	53.33
L-7	20	4.98 \pm 0.88	414.44 \pm 137.33	91.00
L-8	20	5.97 \pm 1.04	466.11 \pm 132.9	100.00
L-2	20	5.48 \pm 0.95	403.33 \pm 123.47	95.00
L-5	20	5.40 \pm 0.72	349.17 \pm 71.87	84.20

Después de hacer las comparaciones usando el test de Tukey, los resultados son los siguientes:

Talla

Existen diferencias significativas en cuanto a la edad de las larvas (12 (a), 15 (a), 18 (b) y 20 (c)) pero no en cuanto a los tanques, tanto los tanques originales como aquellos en los que se adelantó el suministro de nauplios presentan tallas iguales

Peso

Al igual que con la talla, existen diferencias significativas en cuanto a la edad (12 (a), 15 (ab), 18 (b) y 20 (c)) y también en cuanto a los tanques, las larvas de los tanques L-7 y L-8 en los que se adelantó el suministro de nauplios

presentan crecimientos en peso mayores que las larvas de los tanques originales (L-2 y L-5).

De cualquier modo es evidente que, aunque en los tanques en que se adelantó la distribución de *Artemia* el porcentaje de larvas alimentándose con nauplios es mayor a día 20, el aprendizaje de las larvas es muy rápido y al cabo de solamente 5 días de suministro de nauplios son capaces de capturarlos de forma muy efectiva e incrementar su crecimiento tanto en talla como en peso de forma muy rápida.

Cultivo larvario 2003

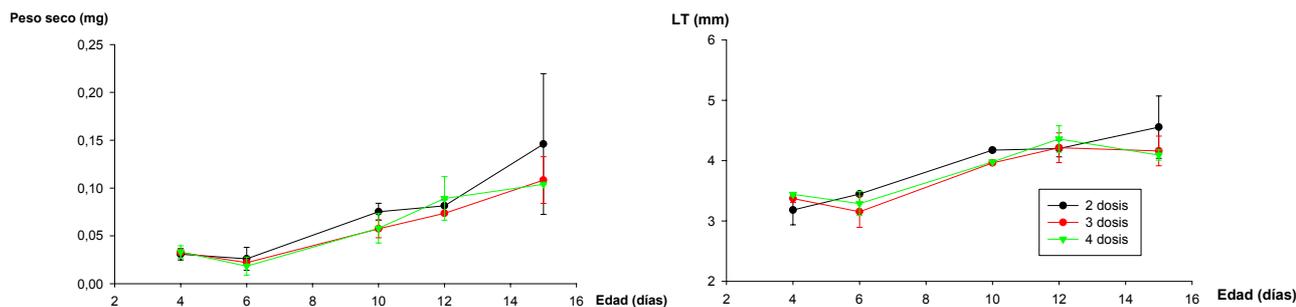
Debido a la escasez de puestas a partir de los reproductores del CA-IRTA, se solicitaron 3 puestas al Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Murcia, que generosamente nos las donó. Las puestas se recibieron los días 25 de marzo (224.000 huevos), 14 de abril (225.000 huevos) y 23 de abril (210.000 huevos) en todos los casos la calidad de las puestas fue aceptable con un porcentaje de eclosión del 65.87%, 44% y 52.5% respectivamente.

Con estas puestas se llevaron a cabo los siguientes experimentos:

1.- Efecto de distintas dosis de suministro de rotífero en el crecimiento, supervivencia e ingestión de las larvas de dentón

Parte de los huevos procedentes de la puesta del 24/3/03 se distribuyeron homogéneamente en 6 cubiletes de malla (150 mm) de 50 litros de capacidad a razón de 4000 huevos por cubilete, otro grupo de 4000 huevos se mantuvo en un contenedor aparte con el fin de estimar el porcentaje de eclosión. En los cubiletes se llevó a cabo la incubación de los huevos y el posterior desarrollo larvario durante 15 días. A partir del día 3 de la eclosión se suministraron rotíferos a todos los cubiletes manteniendo siempre una densidad de 15 rot/ml considerada óptima en función de los resultados obtenidos en el 2002. Dos cubiletes recibieron 2 dosis diarias de rotífero (a las 10 y 18 horas) a fin de mantener esta densidad de 15 rot/ml, otros 2 cubiletes recibieron 3 dosis (10, 14 y 18 horas) y otros 2 recibieron 4 dosis (10, 12, 15 y 18 horas). El rotífero se enriqueció usando la emulsión preparada en el CA-IRTA y siguiendo la metodología ya mencionada en informes anteriores. La temperatura se mantuvo siempre en $19 \pm 1^\circ\text{C}$ y el fotoperiodo fue de 12hL:12hO. Las larvas se muestrearon los días 4, 6, 10, 12 y 15 de la eclosión estimándose la talla total, peso seco y contenido digestivo (recuento de los mastax de rotífero), se estimó también la supervivencia al final del experimento de 15 días de duración.

No se observaron diferencias significativas en el crecimiento en talla o peso seco entre los 3 grupos, tal como se refleja en las siguientes figuras y tabla de ANOVA

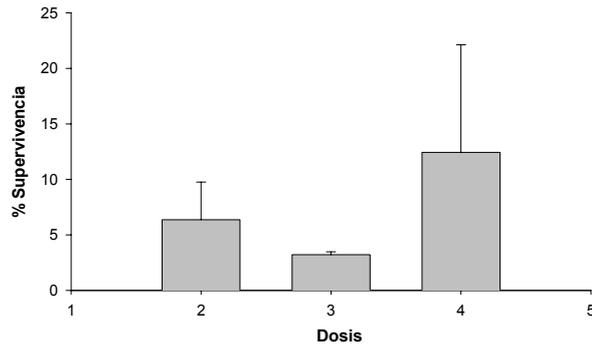


	Talla			Peso	
	g.l.	F	P	F	P
Dosis	2	2.49	0.0847 NS	1.91	0.158 NS
Edad	4	62.36	0.0001	35.61	0.0001

En lo que se refiere al contenido digestivo de las larvas en función de la dosis y la edad sí se observaron diferencias significativas siendo las larvas alimentadas con 2 dosis las que tienen un mayor contenido de rotíferos en el digestivo al cabo de 2 horas (ANOVA, $F=7.45$, $P=0.0007$), especialmente entre los días 10 y 12, aunque a día 15 ya no muestran diferencias significativas, tal como se muestra en la siguiente tabla de resultados

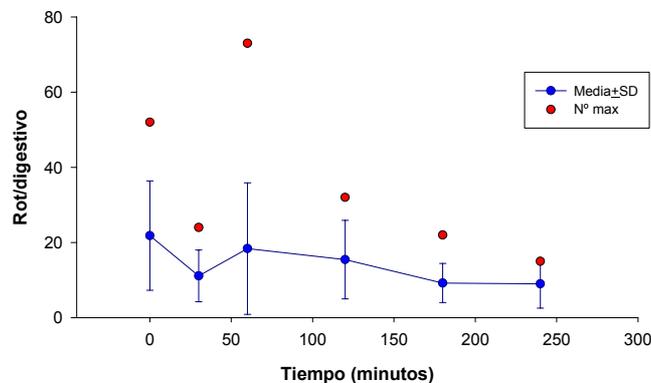
Edad	Dosis	Nº medio	Nº Max – Nº Min
4	2	0.15±0.21 ns	2-0
4	3	0.12±0.16 ns	1-0
4	4	0.18±0.25 ns	6-0
6	2	5.27±2.73 ns	19-0
6	3	4.31±1.32 ns	13-0
6	4	3.44±0.78 ns	9-0
10	2	21.60±6.50 a	36-5
10	3	14.21±2.84 b	39-0
10	4	12.49±5.60 b	26-0
12	2	34.90±0.70 a	75-1
12	3	18.95±4.88 b	40-4
12	4	22.45±6.43 b	73-0
15	2	27.86±4.20 ns	84-1
15	3	20.90±4.46 ns	49-1
15	4	24.59±0.69 ns	95-1

La supervivencia fue muy irregular entre los cubiletes de malla y, aunque da la sensación de que fue mayor en las larvas alimentadas con 4 dosis diarias, estas diferencias no son significativas (ANOVA, $F=0.63$, $P=0.593$)



Estos resultados tomados en conjunto nos indican que el número de dosis distribuidas al día no influye sobre el crecimiento ni la supervivencia larvianas. Es muy probable (aunque no se ha evaluado en este experimento) que el número de rotíferos total ingerido diariamente por las larvas fuera muy semejante entre los 3 grupos experimentales. Aquí solo hemos evaluado el número de rotíferos ingeridos al cabo de 2 horas, pero hay que tener en cuenta que las larvas de peces marinos ingieren presas hasta llenar totalmente su digestivo, luego las van digiriendo lentamente a la vez que vuelven a llenarlo. Aunque las larvas alimentadas con 2 dosis encontraban mayor número de presas al cabo de 2 horas de la primera distribución (el número de rotíferos que hubo que añadir cada día fue muy semejante entre todos los grupos, aunque el reparto no fue igual), al cabo de 4 horas la densidad de presas que estas larvas encontraban en el tanque era inferior que cuando la distribución se hacía en 3 o 4 dosis. En estudios posteriores (ya no pertenecientes a este proyecto) haremos un nuevo diseño experimental para estudiar mejor este efecto de captura-digestión-efecto de la dosis.

Se estudió además la tasa de aclaración del digestivo de las larvas una vez ingerido el rotífero usando larvas de 15 días, los resultados se muestran en la siguiente figura. Las larvas tardan aproximadamente 4 horas en vaciar su digestivo.



2.- Adelanto en la distribución de nauplios de Artemia

Al igual que en el año 2002 realizamos un experimento para comprobar el efecto del adelanto en la distribución de los nauplios de *Artemia* sobre el

crecimiento de las larvas de dentón. Se usaron parte de los huevos de la puesta del 23/4/03.

En el año 2002 el crecimiento en talla sí se vio afectado por el adelanto de la distribución de *Artemia*, pero el crecimiento en peso no. En el caso del año 2003 ninguno de estos dos factores de crecimiento se vio afectado por la distribución temprana de nauplios

	g.l	2002				2003				
		Talla		Peso		Talla		Peso		
		F	P	F	P	g.l	F	P	F	P
Adelanto	1	12.48	0.0005	1.83	0.19	2	1.14	0.286	0.57	0.459
					NS			NS		NS
Edad	3	40.83	0.0001	20.36	0.0001	1	61.14	0.0001	62.25	0.0001

Aunque las larvas son capaces de ingerir nauplios desde el día 12 después de la eclosión (usualmente se suministran a partir de día 15), el crecimiento en talla y peso a día 20 no se ve afectado por este adelanto en la distribución ya que las larvas adquieren la capacidad de captura de los nauplios e incrementan su crecimiento de forma muy rápida una vez que empiezan a alimentarse con *Artemia*.

Objetivo 5. Estudio de requerimientos en ácidos grasos del dentón. Elaboración de enriquecedores

Para el enriquecimiento, tanto del rotífero como de los nauplios de *Artemia*, se utilizó una emulsión fabricada en el CA-IRTA a base de aceite orbital de atún (rico en 22:6n-3, ac. docosahexanoico o DHA) y fosfolípidos. Los resultados del enriquecimiento de las presas vivas se muestran en la siguiente tabla:

(RE: Rotífero enriquecido 6h con la emulsión, NAE: Nauplios enriquecidos 18 h con la emulsión, NA: Nauplios sin enriquecer)

	Emulsión	RE	(mg/g)	NA	(mg/g)	NAE	(mg/g)
Lípidos(mg/g)		204.3		152.0		127.4	
14:0	2.65	3.32	6.78	1.57	2.39	1.28	1.63
15:0	0.70	0.82	1.68	0.73	1.11	0.55	0.70
16:0	15.51	13.42	27.42	15.51	23.58	13.53	17.24
18:0	3.81	4.14	8.46	5.66	8.60	6.57	8.37
22:0	0.15	0.38	0.78	0.60	0.91	0.54	0.69
24:0	0.16		0.00		0.00		0.00
Total saturados	24.81	23.24	47.48	24.07	36.59	23.47	29.90
16:1	4.12	8.32	17.00	4.11	6.25	3.71	4.73
18:1	15.49	16.17	33.04	26.15	39.75	27.20	34.65
20:1	1.62	2.00	4.09	0.76	1.16	1.29	1.64
Total monoinsat	22.18	27.55	56.28	31.02	47.15	32.20	41.02
18:2n-6	1.93	13.38	27.34	6.60	10.03	5.11	6.51
18:3n-3	0.53	3.24	6.62	28.70	43.62	18.16	23.14
20:3n-3	0.23	0.32	0.65	0.73	1.11	0.60	0.76
20:4n-6	1.47	1.14	2.33	0.67	1.02	1.35	1.72
20:5n-3	8.83	6.68	13.65	3.89	5.91	9.23	11.76
22:6n-3	37.12	21.91	44.76	2.42	3.68	7.37	9.39
Total n-3	48.66	33.50	68.44	35.74	54.32	36.31	46.26
Total n-6	3.82	15.17	30.99	7.27	11.05	6.99	8.91
n-3/n-6	12.74	2.21	2.21	4.92	4.92	5.19	5.19
DHA/EPA	4.20	3.28	3.28	0.62	0.62	0.80	0.80

La composición en ácidos grasos (% del total) de las larvas de 2, 6, 9, 22 y 30 días de edad fue la siguiente:

	LD2	LD6	LD9	LD22	LD30
Lípidos (mg/g)	73.50	113.60	120.90	146.90	112.80
14:0	1.37	2.19	1.94	2.63	1.01
16:0	15.63	17.21	15.44	17.01	15.29
18:0	9.19	8.98	8.80	4.71	8.40
Total saturados	26.19	28.38	26.18	24.35	25.07
16:1	2.39	3.22	3.27	4.81	2.12
18:1	18.58	11.33	12.78	14.68	18.59
20:1	1.23	1.31	1.47	1.54	1.07
Total monoinsat	22.20	15.86	17.52	21.03	21.78
18:2n-6	7.28	9.90	14.14	3.05	7.30
18:3n-3	10.69	3.60	3.90	1.57	10.29
20:2n-6	0.87	0.97	1.23	0.41	0.63
20:4n-6	2.01	1.17	1.18	1.31	2.19
20:5n-3	9.34	4.24	5.47	6.29	10.02
22:5n-3	1.35	1.35	1.95	1.55	1.46
22:6n-3	12.51	31.39	23.94	37.57	12.25
Total n-3	33.89	40.58	35.26	46.98	34.62
Total n-6	10.91	12.04	17.55	4.77	11.55
n-3/n-6	3.11	3.37	2.01	9.85	3.00
DHA/EPA	1.34	7.40	4.38	5.97	1.22

El destete se llevó a cabo usando dietas comerciales (Proton y NRD, Inve) alrededor del día 30, sin ningún problema de aceptación. No se observaron deformaciones esqueléticas ni operculares en los juveniles obtenidos usando estas dietas de enriquecimiento. Sí se observó un alto grado de canibalismo y de ataques de individuos de mayor talla sobre aquellos de talla inferior, con pérdida de globos oculares en algunos casos.

Objetivo 6. Cultivo intensivo frente a cultivo semiextensivo

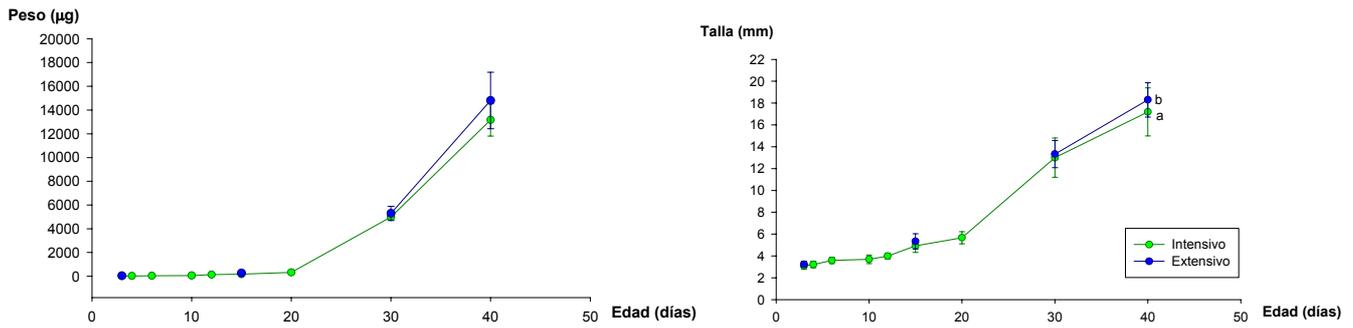
Para este estudio se utilizó la puesta del 14/4/03 de 225.000 huevos. De éstos, un total de 187500 se dispusieron en un tanque de 1500 litros cuando llegaron a fin de realizar allí la incubación y el cultivo larvario siguiendo la metodología de cultivo intensivo normalmente usada en el CA-IRTA, el resto (37500 huevos) se dispuso en otro tanque de 1500 litros que 2 semanas antes se había sembrado con fitoplancton (*Isochrysis galbana* T-Iso y *Nannochloropsis gaditana*) y con 19 millones de rotíferos de la cepa S-1 y 2 millones de la cepa Bs en el que se seguiría la tecnología de cultivo semiextensivo según lo publicado por Divanach (2000). La eclosión de los huevos fue muy desigual en ambos tanques un 16% en el intensivo y un 44% en el extensivo, quedando al final 30000 larvas y 16500 larvas respectivamente, lo que supone una densidad de 20 y 11 larvas/litro. Las larvas del tanque extensivo se mantuvieron sin ninguna adición de comida hasta el día 15 después de la eclosión, cuando alcanzaron los 6 mm de longitud y se comenzó la distribución de nauplios de *Artemia* enriquecidos, siempre siguiendo las indicaciones de cultivo extensivo llevado a cabo en Grecia. Las densidades de rotífero en el tanque se mantuvieron siempre muy elevadas. Además hizo aparición un copépodo harpacticóide del género *Tisbe* sp. (confirmado por el profesor J. Damiá del IMEDEA, Mallorca) que también sirvió de alimento a las larvas.

Las larvas del tanque intensivo se alimentaron siguiendo la pauta empleada en el CA-IRTA para el cultivo larvario del dentón, es decir rotífero Bs durante los primeros 5 días de alimentación, que comienza cuando las larvas tienen 3 días de edad, en una densidad de 15 rot/ml distribuidos en 2 dosis, seguido de rotífero S-1 desde el día 8 hasta el 15 en las mismas condiciones de densidad y dosis. Los nauplios de *Artemia* se adicionaron por primera vez a este tanque intensivo cuando las larvas tenían 12 días de edad.

El destete se llevó a cabo en los dos tanques al mismo tiempo (día 34 después de la eclosión), suspendiéndose la adición de *Artemia* a día 45. El día 40 se contaron el número de peces superviviente y se calculó el porcentaje de supervivencia siendo del 3.2% en el caso del cultivo intensivo (tanque N-1) y del 4.36% en el extensivo (tanque N-2).

Para la observación de los distintos tipos de deformaciones esqueléticas se utilizó la técnica de doble tinción de (Dingerkus, 1977) usando Alcian blue para teñir cartílago y Alizarin red para teñir el hueso.

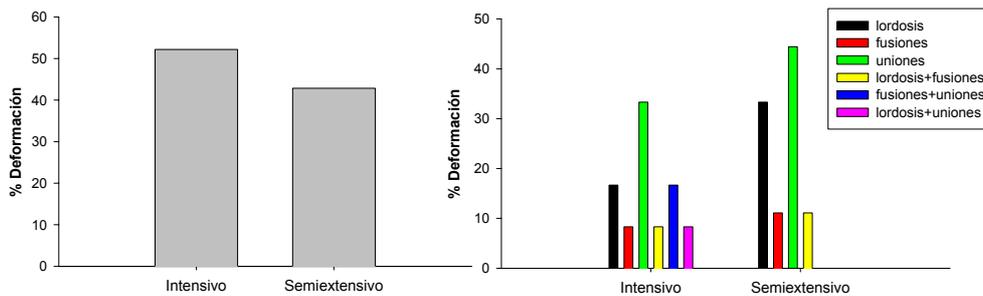
Los datos de crecimiento en talla y peso de los dos tanques se muestran en las figuras siguientes y en la tabla de ANOVA



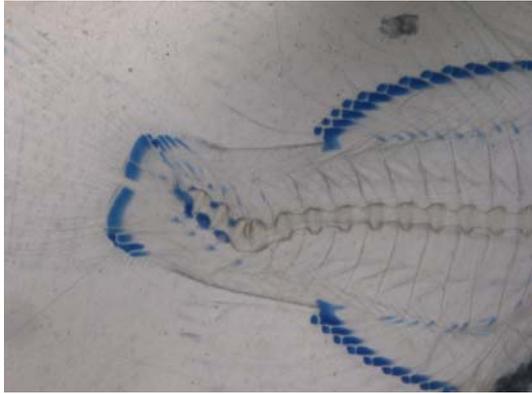
	Talla			Peso	
	g.l.	F	P	F	P
Edad	3	847	0.0001	136	0.0001
Tanque	1	4.29	0.042	0.63	0.444 NS
Edad*Tanque	2	0.91	0.438 NS	0.48	0.703 NS

El crecimiento en talla fue significativamente mayor cuando el cultivo se realizó siguiendo el sistema extensivo, sin embargo el crecimiento en peso no fue significativamente distinto entre ambos tanques.

En lo que se refiere al número de peces con deformaciones esqueléticas, éste fue superior (52.17%) en el tanque intensivo que en el extensivo (42.86%), siendo las deformaciones más frecuentes la lordosis y las uniones entre vértebras. En el caso del cultivo intensivo, además, se dieron de forma más frecuente 2 deformaciones al mismo tiempo (lordosis + fusiones, lordosis + uniones, fusiones + uniones) que en el extensivo, donde sólo se presentaba un tipo de deformación, tal y como se muestra en las figuras siguientes.



Los distintos tipos de deformaciones observadas se recomprobaron según Koumoundouros et al. (1999)



CONCLUSIONES

- La mayor parte de las reservas vitelinas del huevo del dentón se consumen durante la incubación (aproximadamente el 70%) quedando un 30-40% (principalmente en la gota de grasa rica en lípidos energéticos como son triglicéridos y ceras) para ser consumido en los primeros días de vida larvaria
- La composición en ácidos grasos de los huevos y larvas del dentón es semejante a la de otros peces marinos, con un alto contenido en poliinsaturados n-3
- El contenido en ácidos grasos del rotífero es similar a las 2 y a las 6 horas de añadida la emulsión enriquecedora, sin embargo para los nauplios de *Artemia* es necesario enriquecer durante al menos 18 horas para conseguir los niveles adecuados de ácidos grasos
- La supervivencia y el crecimiento larvario del dentón mejoran significativamente si se añaden 15 rotíferos por ml en el agua de cultivo
- Las larvas de 10 días se alimentan de manera mucho más efectiva (prácticamente el 100% presenta mastax de rotífero en el digestivo) que las de 4 o 6 días de edad
- El número de dosis de rotífero suministrado diariamente no parece repercutir en el crecimiento de las larvas, aunque a mayor número de dosis mejor es la calidad del rotífero suministrado (especialmente si éste continúa enriqueciéndose)
- El suministro adelantado (día 10) de nauplios de *Artemia* permite a las larvas “aprender” más rápidamente a capturar presas de mayor tamaño, aunque esto no influye en el crecimiento posterior (día 20)
- La digestión y excreción de los rotíferos y nauplios de *Artemia* por parte de las larvas del dentón se lleva a cabo en 240 y 180 minutos respectivamente

- El cultivo semiextensivo permite obtener un crecimiento en talla y una supervivencia relativamente mayores que si el cultivo se hace siguiendo el sistema intensivo. El porcentaje y grado de deformación esquelética de las larvas es también relativamente inferior si el cultivo se hace siguiendo el sistema extensivo

DIFUSIÓN

Estévez, A, Vallejo, O. (2003).- Efecto de la densidad de rotífero y del adelanto de la distribución de Artemia durante el cultivo larvario del dentón (*Dentex dentex*). Poster presentado al IX Congreso Nacional de Acuicultura, Cádiz, Mayo 2003

- CA de Murcia. IMIDA. Subproyecto Dentón

OBJETIVOS INICIALES

1. Definir las condiciones de cultivo del dentón durante las fases de preengorde y engorde. Este apartado incluye los siguientes objetivos específicos:

1.1. Dada la aparente susceptibilidad al manejo de esta especie y su sensibilidad a la aparición de enfermedades, se evaluarán, en primer lugar las condiciones apropiadas de manejo, manipulación y respuesta al estrés.

1.2. También se analizará el efecto de la carga sobre el crecimiento, la mortalidad y la respuesta a estrés, ya que este factor tiene una gran importancia económica a la hora de establecer un cultivo industrial.

1.3. Asimismo, en el cultivo del dentón, parecen ser abundantes las interacciones agresivas, por lo que se plantea avanzar en el entendimiento de su comportamiento social.

2. Influencia del peso corporal y la temperatura sobre el crecimiento, la ingesta, la composición corporal y el consumo de oxígeno y desarrollo de modelos que permitan diseñar y planificar una explotación industrial de dentón. También se estudiará la influencia de la época de reproducción en estos aspectos.

3. Adecuación de la alimentación con pienso seco para conseguir un crecimiento óptimo. Para ello se estudiará:

3.1. Aproximación a la dieta óptima, tanto desde el punto de vista del crecimiento del pez como de que sea una dieta factible para el piscicultor. Para ello se pretende concretamente:

- Establecer la relación proteína/energía adecuada para esta especie
- Conocer su capacidad de utilización de carbohidratos

- Estudiar la posibilidad de utilizar fuentes proteicas de origen vegetal
- Estudiar la digestibilidad de estos piensos con el objetivo de que ésta sea máxima, minimizando la cantidad de aportes de nutrientes no absorbidos al medio (dietas ecológicas).

3.2. Determinación de la tasa óptima de alimentación.

3.3. Determinación de las pautas óptimas de alimentación.

4. Estudio comparativo de crecimiento e índice de conversión en tanques (500 m³) y jaulas (16 m de diámetro) y comprobación de los modelos de crecimiento e ingesta.

5. Creación y mantenimiento de un stock de reproductores de dentón.

6. Estudio aproximativo de la aceptación del producto por el consumidor mediante pruebas de palatabilidad.

7. Evaluación económica del cultivo:

7.1. Desarrollo de un modelo bioeconómico. Determinar el rango de precio máximo del alevín, pienso y precio mínimo de mercado.

7.2. Estimación del crecimiento y la tasa de alimentación e índice de conversión en distintos puntos del litoral español, con distintos regímenes de temperatura a lo largo del año, con la finalidad de, en una primera aproximación, determinar los rendimientos del cultivo de esta especie en las distintas áreas y, por tanto, donde sería más adecuado desarrollar su cultivo.

METODOLOGÍA

2.1. Stock de reproductores de dentón y sargo

En el presente proyecto se contempló la captura y mantenimiento de reproductores de dentón como una actividad marginal y con el objeto de apoyar a otros Centros de Investigación que basarán sus actividades en la reproducción y cultivo larvario de esta especie. Sin embargo, y puesto que existió una fuerte demanda de ejemplares para este fin, hasta el punto que este fue un aspecto limitante del conjunto del proyecto coordinado, y, por otro lado, dado el éxito que tuvimos durante el año 2000 en este sentido, se incrementaron los esfuerzos y los recursos (gastos de captura y alimentación y particularmente lo referente a espacio y tanques) en lo relacionado con el estoc de reproductores. Así pues, durante el año 2001 se continuó la captura de ejemplares de dentón. Durante los meses de invierno prácticamente no se encuentran ejemplares en las piedras usuales de captura cerca de costa, y es en primavera cuando se pueden capturar con el currican de fondo; cuando se han utilizado artes de red, tipo trasmallo, la supervivencia de los ejemplares capturados es muy baja.

2.2. Dentón

2.2.1. Modelo de Consumo de Oxígeno en función de peso corporal, temperatura y alimentación.

Para conocer las necesidades de oxígeno y energéticas de esta especie en condiciones rutinarias de cultivo se ha estudiado el consumo de oxígeno en función del peso corporal, temperatura y alimentación, en tanques de 3500 litros y en periodos de muestreo ininterrumpido de 36 horas. Se realizaron 7 sesiones de muestreo en distintas épocas del año, trabajando por lo general con 4 tanques con ejemplares de distinto peso corporal. En total se han conseguido 25 observaciones para un rango de temperatura de 14 a 27°C, y pesos corporales de 180 a 1400 g.

2.2.2. Comportamiento respiratorio del dentón y el sargo picudo

Se estudió el comportamiento respiratorio y la respuesta progresiva a la hipoxia del dentón, con especial atención a las variables de interés para su cultivo. Se obtuvo (1) la concentración crítica de oxígeno (O_C), o nivel donde los animales no pueden cubrir sus requerimientos metabólicos de oxígeno; (2) la concentración letal de oxígeno (O_L) y (3) la frecuencia de ventilación (FV). Además, se analizó la influencia del peso y la temperatura sobre cada una de estas variables y se desarrollaron modelos que pueden ayudar a mejorar la supervivencia y producción de esta especie. Se utilizaron individuos de pesos corporales comprendidos entre 100 y 800 g, y temperaturas desde 13°C hasta 29°C.

2.2.3. Actividad alimentaria del dentón.

Con el fin de determinar el patrón de actividad alimentaria del dentón, así como los cambios de carácter estacional que se producen en dicho patrón, 60 dentones de 108.5 ± 23.8 g (media \pm SD) fueron alojados en cuatro cubas de 450 l de capacidad bajo condiciones ambientales de fotoperiodo y temperatura. Durante un ciclo anual completo, se registró la actividad de los dentones alimentados *ad libitum* mediante la auto-activación de comederos a demanda.

2.2.4. Efecto del tipo tanque sobre el índice de condición (K).

El factor de condición (K) expresa, en peces, la relación volumétrica en función del peso, según la expresión matemática: $K = P^{100}/L^3$, donde P es el peso en gramos y L la longitud en cm. Dicho factor puede indicar el estado nutritivo de los organismos y, en cultivo, es útil para comparar y cuantificar numéricamente la condición o estado en que el pez se encuentra pudiendo asociarse a una valoración de la contextura o estado de delgadez o gordura (Martínez Millán, 1987). Hay variaciones interespecíficas de K, y para una especie determinada puede variar ampliamente, ya que sobre él influyen entre otros factores la temperatura, cantidad y calidad de alimento y estado reproductivo (García García, *et al.*, 2001). En el presente estudio se compara el índice de condición en ejemplares de dentón estabulados en dos tipos de tanques: "raceway" y

circular, cuyas formas distintas pueden guardar relación con el comportamiento de esta especie.

Los ejemplares de dentón fueron capturados en el mar mediante currican de fondo y transportados en recipientes con circulación de agua hasta las instalaciones experimentales de acuicultura del IMIDA en San Pedro del Pinatar. En las instalaciones se utilizaron para estos ejemplares dos tipos de tanques: 4 tanques "raceway" de 6,5x1x1 m con un volumen útil de 4000 litros y 6 tanques circulares de 1,5 m de diámetro y 1600 litros de volumen útil. Los peces se alimentaron a saciedad, distribuyendo el alimento en dos tomas. Se les suministró 6 días boga (18,5 % en peso húmedo de proteína bruta y 5,9% de lípidos totales) y 1 día sardina (17,8 de proteína y 19,6% de lípidos). La temperatura del agua y el fotoperíodo fueron los naturales. En ambos casos se tomaron medidas de peso y longitud total a lo largo de ciclo anual

2.2.5. Estudio comparativo del perfil de ácidos grasos en ejemplares salvajes de dentón y engordados con pienso comercial.

Se han tomado muestras de tejidos (hígado y músculo) de dentones salvajes y otros mantenidos en cautividad durante seis meses que han sido alimentados con pienso de dorada de la casa Skretting (Minerales: 8,5%, Humedad: 5,8%, Grasa: 20,8%, Proteína: 43%, Fibra: 1,3%, MELN: 20,6%). Se han sacrificado 5 animales de cada tipo con unos pesos medios de $249,2 \pm 15.6$ g en el caso de los procedentes del medio natural y de $244,024 \pm 15.2$ en los mantenidos en cultivo.

Se ha analizado la composición en macronutrientes de las muestras de músculo de los distintos animales

2.3. Sargo picudo

2.3.1.-Efecto del contenido en lípidos.

Se diseñaron 5 dietas en las que se mantuvo constante el nivel de proteína (46%), y varió el contenido en lípidos: 4, 7, 12, 16 y 19 %. El experimento tubo una duración de 60 días (del 17 de agosto al 20 de octubre). Se utilizaron 15 tanques, tres por cada dieta, con 12 ejemplares por tanque con pesos corporales comprendidos entre 60 y 80 g. No existían diferencias significativas del peso medio entre los cinco grupos experimentales ($P > 0.05$), ni entre los 15 tanques ($P > 0.05$). Los peces fueron alimentados tres veces al día a saciedad, y siete días a la semana. Se estudiaron índices de crecimiento y aprovechamiento de la dieta (tasa específica de crecimiento, tasa relativa de alimentación, índice de eficacia alimentaria, valor productivo de la proteína y de los lípidos); somáticos (factor de condición, índice hepatosomáticos y porcentaje de grasa mesentérica); y composición corporal (proteína, lípidos, humedad y cenizas). Los resultados más satisfactorios de crecimiento y aprovechamiento nutritivo se obtuvieron con la dieta que contenía el 7% de lípidos. No parece, pues, que en esta especie se consiga el efecto ahorrador de proteínas mediante el aumento del contenido de lípidos en la dieta.

2.3.2. Efecto del contenido en lípidos de piensos comerciales sobre el crecimiento, la biometría, la composición corporal y el aprovechamiento nutritivo de la dieta. Valoración económica.

Se ha llevado a cabo un experimento con sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) con dos piensos comerciales para dorada de diferente nivel de lípidos, 14 y 22%. Su composición analizada en nuestro laboratorio es (% de s.f.): Dorada 14 (Minerales:8,45, Humedad: 7,22, Grasa: 8,44, Proteína: 44,20, Fibra: 2,39, MELN: 29,31) y Dorada 22 (Minerales:11,92, Humedad: 7,52, Grasa: 17,44, Proteína: 49,42, Fibra:

Se han utilizado ejemplares (10 por tanque) con un peso inicial de $231,9 \pm 18,0$ gramos alimentados durante 96 días con los dos tipos de pienso (por cuatuplicado). Cada 30 días se han muestreado para valorar el crecimiento en peso y longitud.

2.3.3.- Modelo econométrico de viabilidad/rentabilidad para el engorde de nuevas especies: caso del sargo picudo (*Diplodus puntazzo*).

El sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) es una especie que presenta un gran potencial para diversificar los productos de la acuicultura marina. Las técnicas de cultivo son muy similares a las establecidas para la dorada (*Sparus aurata*), por lo que las estructuras pueden ser las mismas. El crecimiento y el índice de conversión, alimentando a esta especie con piensos para dorada, son muy similares a los de esta especie, y aunque no es conocida en los grandes mercados, como en su día ocurrió con la dorada, presenta también una buena aceptación por parte del consumidor. Pero a diferencia de la dorada y otras especies carnívoras, el sargo picudo es omnívoro y puede utilizar bien la proteína de origen vegetal. De hecho se han obtenido resultados muy satisfactorios con niveles de sustitución de harina de pescado por harina de soja de hasta el 60%. Por tanto, el capítulo de la alimentación puede ser más bajo que el de las explotaciones de dorada o lubina.

En el presente trabajo se desarrolla un modelo econométrico de viabilidad/rentabilidad con la finalidad de estimar parámetros económicos ligados a la producción, que aún no están definidos a nivel del cultivo comercial del sargo picudo, tales como precio de venta del producto final, y coste del alevín y del pienso. El modelo es válido para unos rangos preestablecidos de dichos parámetros, que se han definido en base a las características de esta especie.

RESULTADOS

2.1. Stock de reproductores de dentón y sargo

Los ejemplares capturados fueron rápidamente estabulados en nuestros tanques y la supervivencia a los 15 días desde su captura fue muy alta, del 90%. Sin embargo, tardan mucho en adaptarse a los tanques, se atacan entre

ellos, y durante el un período amplio de tiempo, que debe depender de muchos factores, aunque la temperatura del agua parece el más importante, no comen el alimento que se les suministra. Con el tiempo un porcentaje muy alto de ejemplares presenta diferentes daños en los ojos (cataratas y exoftalmia). En noviembre de 2002 se muestrearon 120 ejemplares de cinco lotes, el 20% presentaba daños en los ojos, el 16,7 % en un ojo y el 3,3% en los dos. Las bajas que se retiran de los tanques usualmente presentan daños oculares. La mortalidad de estos lotes ha sido alta produciéndose fundamentalmente durante los meses de verano con temperaturas de 26 a 29°C. No obstante, se consiguieron un número significativo de ejemplares en buen estado que se ha suministrado a otros Centros y empresas del sector como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Suministro de ejemplares de dentón y sargo picudo para estoc de reproductores.

Especie	Fecha	Centro o Empresa	Nº Ejemplares	Peso medio
Dentón	Feb/2001	IEO (Murcia)	30	722
Dentón	Ene/2002	IRTA	37	1395
Dentón	Ene/2002	IEO (Murcia)	37	1372
Dentón	May/2002	IRTA	30	1268
Dentón	May/2002	IEO	21	577
Sargo picudo	May/2002	PISCIMAR, S.L.	16	500
Dentón	Oct/2003	Alevines del SE, S.A.	33	703
Dentón	Nov/2003	IEO (Murcia)	24	461
Dentón	Dic/2003	IRTA	7	1093
Sargo picudo	May/2003	PISCIMAR S.L.	40	500
Sargo picudo	Dic/2003	Alevines del SE, S.A.	63	650

2.2. Dentón

2.2.1. Modelo de Consumo de Oxígeno en función de peso corporal, temperatura y alimentación.

Se han desarrollado 4 ecuaciones: CO en reposo, CO con alimentación, CO medio diario, CO máximo debido a la alimentación, ajustándose, en todos los casos, los datos satisfactoriamente al modelo $\ln Y = \ln a + b \ln P + cT + dT^2$. En base a estas ecuaciones se determina un valor máximo en torno a los 26°C que debe estar próxima a la temperatura óptima de la especie (Figura 1). El patrón diario y el efecto de la alimentación es similar al de otras especies como la dorada. Sin embargo, las necesidades energética son bastante superiores. Así por ejemplo, en CO en rutina es un 40% superior y con alimentación casi un 80%.

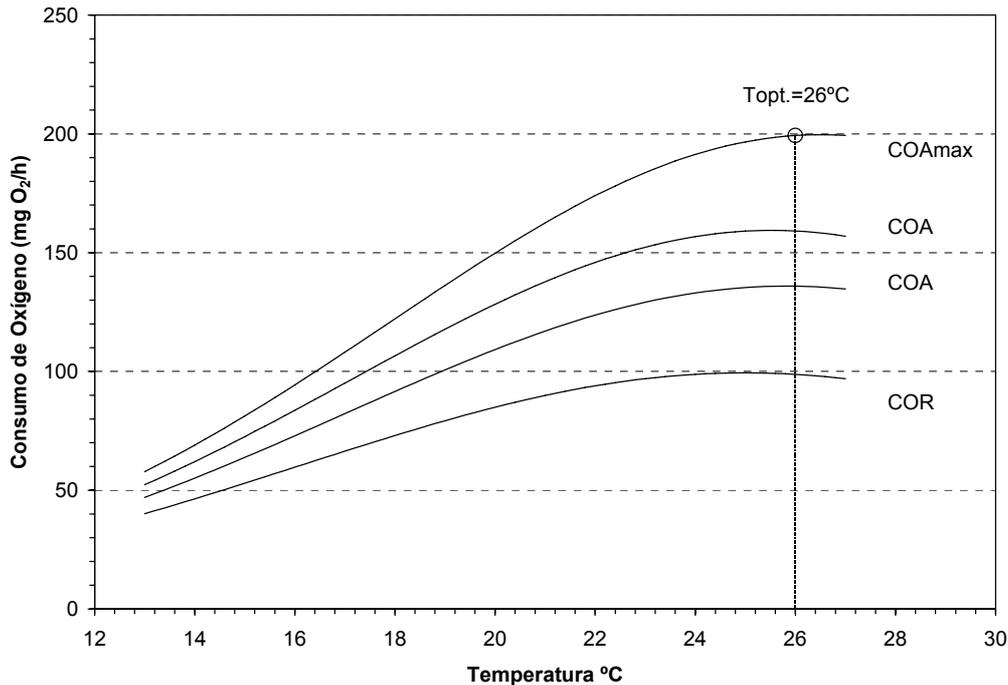


Figura 1. Evolución de cuatro niveles de consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2/\text{h}$) en el dentón. Las curvas se han estimado para un ejemplar de 500 g de peso corporal, a partir de los modelos desarrollados. COR: consumo de oxígeno de rutina; COD: consumo de oxígeno medio diario; COA: consumo de oxígeno con alimentación; Consumo de oxígeno máximo con alimentación.

2.2.2. Comportamiento respiratorio del dentón y el sargo picado

El valor medio de O_C fue del 35.04 ± 5.41 % de saturación de oxígeno, con un intervalo de confianza (I.C.) al 95 % de 31.19-38.79. Este valor aumenta de forma exponencial con la temperatura ($p < 0.05$) pero no se afecta significativamente por el peso. El valor medio de O_L fue del 16.31 ± 2.40 %, con un I.C. de 14.64-17.98. La O_L depende positiva y significativamente de la temperatura del agua ($p < 0.001$) y también del peso con una probabilidad del 92 % ($p < 0.08$). La FV, en los valores próximos al 100 % de saturación de oxígeno, oscila entre 31 y 71 ventilaciones/minuto (v/m) y depende de forma exponencial con la temperatura ($p < 0.05$). Cuando la concentración de oxígeno alcanza un valor del 65 % la FV comienza a aumentar a todas las temperaturas hasta alcanzar un máximo en el 26 %. La FV máxima oscila entre 58 y 130 v/m, dependiendo muy significativamente del peso ($p < 0.001$) y la temperatura ($p < 0.001$). Podemos concluir, que los valores de oxígeno por encima del 65 % son óptimos dentro del rango de peso y temperatura estudiados, por no provocar cambios significativos en la FV ni en el consumo de oxígeno de esta especie. Entre el 65 y 35 % de oxígeno, el dentón puede conseguir el oxígeno necesario mediante la intervención de mecanismos ventilatorios y circulatorios, lo que puede repercutir negativamente en el crecimiento. Por debajo del 35 % de oxígeno los niveles son peligrosos, ya que se establece la obtención anaerobia de energía, pudiendo provocar la muerte de los animales a corto plazo. El aumento de la temperatura acentúa el efecto de la hipoxia, aumentando los niveles críticos y letales de oxígeno. Para el sargo picado se realizó un estudio similar.

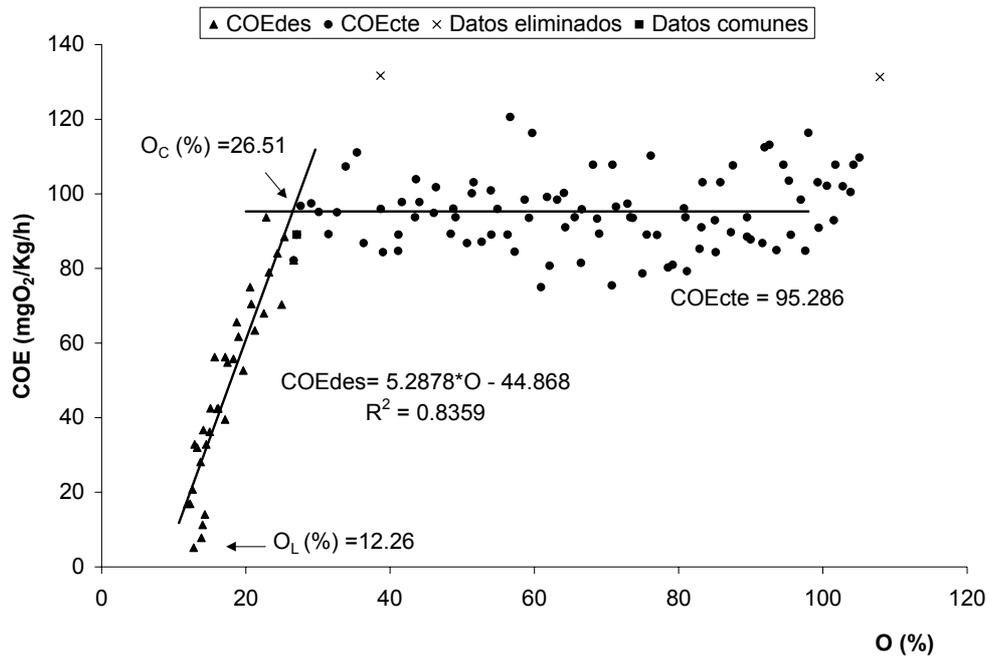
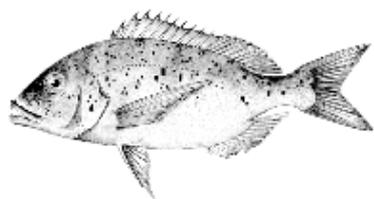
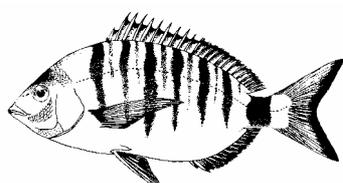
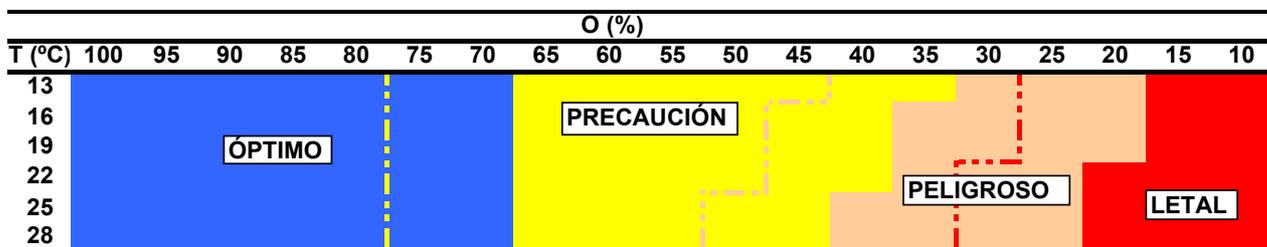


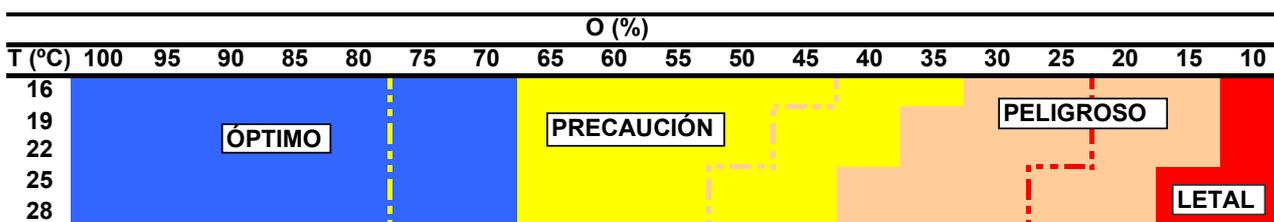
Figura 2. Consumo de oxígeno específico (COE) en función de la concentración de oxígeno en *D. dentex* en el experimento 8. Se muestran los valores de COE constantes (COEcte) y descendentes (COE des), así como las concentraciones crítica (O_C) y letal de oxígeno (O_L). Los datos eliminados no se tuvieron en cuenta en los cálculos, y los datos comunes pertenecen a los dos subconjuntos de datos (COEcte y COE desc).



Dentón



Sargo picudo



ÓPTIMO = NO SE MODIFICAN NI LA FRECUENCIA DE VENTILACIÓN NI EL CONSUMO DE OXÍGENO.

PRECAUCIÓN = SE MODIFICA LA FRECUENCIA DE VENTILACIÓN PERO NO EL CONSUMO DE OXÍGENO.

PELIGROSO = SE MODIFICA EL CONSUMO DE OXÍGENO.

LETAL = VALOR POR DEBAJO DEL CUAL MUEREN LOS ANIMALES.

*La línea discontinua representa un margen de seguridad del 10 % de saturación. Valores obtenidos para animales de 100 g de peso.

Figura 3. Concentración de oxígeno adecuada para el cultivo del dentón común (*Dentex dentex*) y el sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) (*).

2.2.3. Actividad alimentaria del dentón.

Los datos obtenidos reflejan cambios en los patrones estacionales de actividad alimentaria de los dentones. Así, durante el verano, esta especie es estrictamente diurna, con un pico de máxima actividad entre las diez y las doce del mediodía. Con la bajada de la temperatura y a medida que el día se acorta, aparecen picos de actividad sobre la puesta y salida del sol, hasta que llegado el invierno el dentón adopta hábitos marcadamente crepusculares. Con la primavera, el pico crepuscular pierde importancia y la máxima actividad queda centrada sobre las primeras horas de luz. Así pues, la actividad alimentaria de esta especie se concentra de forma destacable al amanecer y en el crepúsculo, lo cual coincide con el comportamiento general de los grandes depredadores.

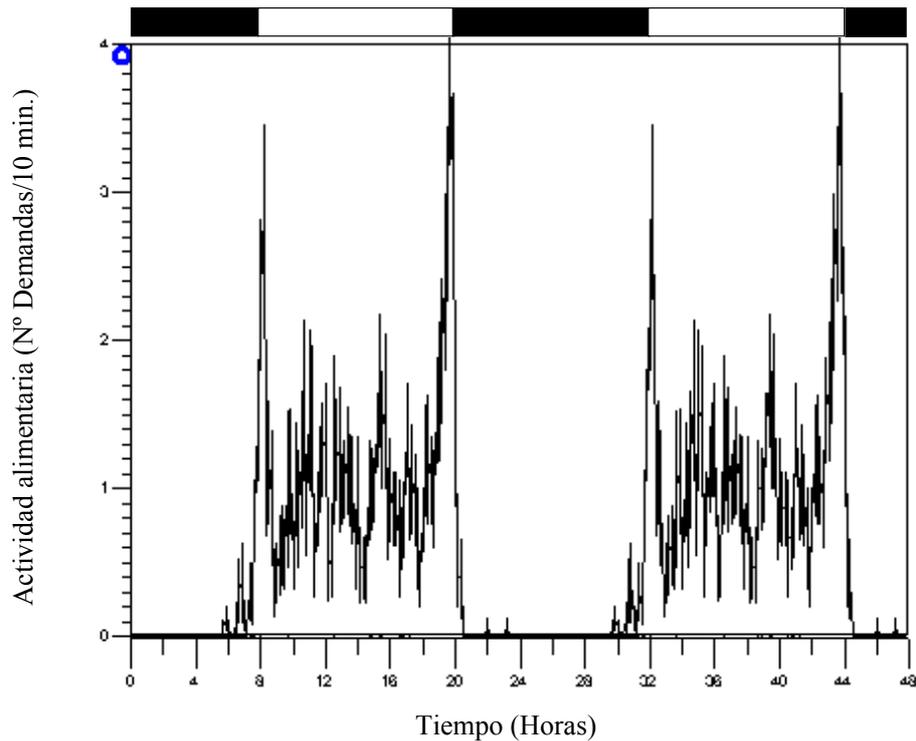


Figura 4. Patrón de actividad alimentaria durante el verano en el dentón. La barra superior negra y blanca indica los períodos de luz (día) oscuridad (noche).

2.2.4. Efecto del tipo tanque sobre el índice de condición (K).

El análisis de correlación parcial puso de manifiesto que el peso no sólo depende significativamente de la talla sino también del tipo de tanque ($P < 0.01$). Por ello, los datos se ajustaron mediante el análisis de regresión a los siguientes modelos: a) $\ln P = \ln a + b \ln L$; b) $\ln P = \ln a + b \ln L + cT$; T es el tipo de tanque, es una variable cualitativa de tal forma que el tanque “raceway” tiene el valor 0 y el circular el 1. A partir de las ecuaciones se estimó el valor de K.

Los resultados muestran que K, cuando no se tiene en cuenta el tipo de tanque (1), varía con la talla desde 1,25 para una longitud total de 18 cm a 1,68 para 47 cm. Cuando se tiene en cuenta el tipo de tanque (4) el valor de K es significativamente mayor un 4,33% en los tanques circulares que en los “raceway”, con independencia del peso. Sin embargo, cuando se aplica el modelo (a) a los datos obtenidos en cada tipo de tanque (ecuaciones 2 y 3), el valor de K es un 12% superior en los tanques circulares para los ejemplares más pequeños, y la diferencia tiende a disminuir según aumenta la talla hasta igualarse en los ejemplares más grandes. Por tanto, parece que el tanque circular es más adecuado que el “raceway” para la estabulación de ejemplares de esta especie. Los motivos pueden ser muy diversos, pero probablemente los aspectos relacionados con el comportamiento deben ser uno de los factores más importantes. El hecho de que el efecto del tipo de tanque sobre el valor de K, se atenúe según aumenta el peso de los ejemplares, presumiblemente esté relacionado con el tiempo de estabulación de los ejemplares y su adecuación a

ellos, ya que, por lo general, en las circunstancias del caso presente, tiempo de estabulación y peso están relacionados. Sean cuales sean las razones, lo que queda claro, por otro lado, es que K, siendo un parámetro muy fácil de medir, es muy útil que permite identificar cambios en el estado nutritivo de los peces debidos a las numerosas variables que pueden estar presente en el cultivo, como es el caso aquí presentado.

Tabla 2. Análisis de regresión. ES: error estándar del coeficiente; ESE: error estándar de la estimación

	n	Ln _a ±ES	b±ES	c±ES	R ² (%)	ESE	ANOVA
LnP=Ln _a +bLnL							
(1) Todos los datos	1440	-5.265±0.067	3.306±0.019		95.32	0.118	P<0.001
(2) Tanques receway	1004	-5.675±0.104	3.419±0.029		93.10	0.120	P<0.001
(3) Tanques circulares	436	-5.176±0.101	3.286±0.030		96.58	0.112	P<0.001
LnP=Ln _a +bLnL+cLnT							
(4) Todos los datos	1440	-5.459±0.075	3.358±0.021	0.042±0.007	95.42	0.117	P<0.001

2.2.5. Estudio comparativo del perfil de ácidos grasos en ejemplares salvajes de dentón y engordados con pienso comercial.

Se ha analizado la composición en macronutrientes de las muestras de músculo de los distintos animales. Los resultados se muestran en la siguiente tabla en porcentaje de sustancia fresca. Al aplicarle el análisis estadístico de la t de Student no se observan diferencias en los distintos componentes según la procedencia. Es de resaltar el bajo contenido en grasa y alto en proteína del músculo (parte comestible) del dentón.

Tabla 3. Composición en macronutrientes de ejemplares salvajes y cultivados.

	Minerales	Humedad	Grasa	Proteína
Salvajes	1,65±0,11	77,46±0,53	0,34±0,17	20,24±0,18
Cultivados	1,52±0,10	77,99±2,21	0,27±0,16	20,31±1,43

En el perfil de ácidos grasos de los dentones salvajes se presenta un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). En concreto un 50%. Estos ácidos grasos son beneficiosos para prevenir ciertas enfermedades cardiovasculares, el cáncer de mama y de colon, la psoriasis, etc. La cantidad de PUFA es importante pero también el balance entre los ácidos grasos n-3 y n-6. El contenido de ácidos grasos saturados es normalmente demasiado alto en las dietas occidentales. La principal fuente de PUFA de la dieta son los ácidos grasos n-6 (18:2 n-6) común en la mayoría de semillas, mientras que el contenido en ácidos grasos n-3 es bajo. Para balancear el contenido de ácidos grasos saturados y n-6 en dietas occidentales, una dieta de pescado podría ser beneficiosa. El dentón presenta un 42% de n-3. Se sabe que el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) previene la agregación plaquetaria en humanos. El gran valor del EPA así como del ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA) se indica por el hecho de que ambos son metabolizados a prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. Es más, se ha descrito que estos ácidos grasos n-3 son 20 veces más activos que su precursor, el ácido

linolénico, en la inhibición del cáncer. Por esta relación los tipos de grasas nutricionales son importantes. El dentón presenta alta cantidad (37%) de DHA. Las muestras de los dentones cultivados se están procesando actualmente. Se podrán comparar las variaciones del perfil de ácidos grasos en los dentones en cultivo.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos de dentones salvajes

Ácido graso	Músculo	Hígado
14:0	5,31±4,48	1,52±0,24
15:0	0,10±0,10	0,43±0,15
16:0	23,40±1,76	26,29±0,69
17:0	0,39±0,13	0,83±0,10
18:0	7,59±0,26	6,13±2,06
22:0	0,10±0,10	0,16±0,09
Σ Saturados (SFA)	36,90±2,76	35,35±1,58
16:1n-7	1,75±0,40	3,44±0,86
17:1n-7	0,50±0,06	0,57±0,11
18:1n-9	8,95±1,50	7,65±1,27
24:1n-9	1,55±0,44	0,80±0,08
Σ Monoinsaturados (MUFA)	3,29±0,28	4,24±0,92
18:2n-6	0,86±0,02	0,73±0,08
18:3n-3	0,54±0,05	0,29±0,17
20:4n-6	7,93±1,17	7,70±0,40
20:5n-3	3,66±0,32	3,52±0,60
22:6n-3	37,36±2,93	39,94±2,62
Σ Poliinsaturados (PUFA)	50,36±2,29	52,18±2,72
Σ n-3	41,56±2,60	43,75±2,49
Σ n-6	8,80±1,17	8,43±0,32
Σ n-9	10,50±1,30	8,45±1,33
Σ n-3/n-6	5,06±0,86	5,19±0,22
Σ n-3/n-9	4,20±0,67	5,61±0,93

2.3. Sargo picudo

2.3.1.-Efecto del contenido en lípidos.

Los resultados muestran que no existían diferencias significativas del peso medio entre los cinco grupos experimentales ($P>0.05$), ni entre los 15 tanques ($P>0.05$). Los peces fueron alimentados tres veces al día a saciedad, y siete días a la semana. Se estudiaron índices de crecimiento y aprovechamiento de la dieta (tasa específica de crecimiento, tasa relativa de alimentación, índice de eficacia alimentaria, valor productivo de la proteína y de los lípidos); somáticos (factor de condición, índice hepatosomáticos y porcentaje de grasa mesentérica); y composición corporal (proteína, lípidos, humedad y cenizas).

2.3.2. Efecto del contenido en lípidos de piensos comerciales sobre el crecimiento, la biometría, la composición corporal y el aprovechamiento nutritivo de la dieta. Valoración económica.

Se ha estudiado la influencia del nivel de lípidos de la dieta sobre el crecimiento y la ingesta obteniéndose que no hay diferencias significativas. Sin embargo, con el 22% de lípidos una ingesta algo menor y un crecimiento en peso algo mayor dan lugar a una disminución significativa del índice de conversión (0,53, MELN: 13,18).

Tabla 5. Crecimiento y eficacia alimentaria de los dos piensos.

Porcentaje lípidos dieta	14%	22%
Peso inicial (g)	232,8±6,7	231,1±9,0
Peso final (g)	382,8±12,7	400,7±17,2
TEC	0,52±0,02	0,57±0,04
TAR	1,03±0,08	0,99±0,04
IC	2,04±0,15 ^a	1,78±0,10 ^b
PPV	22,30±0,11	23,70±1,47
FPV	58,45±3,53	62,25±10,65

Los análisis de composición corporal muestran un porcentaje mayor de grasa para la dieta de contenido en lípidos superior, así como un porcentaje de proteína algo menor, significativo pero no importante cuantitativamente. De este mayor contenido en grasa una parte importante se encuentra almacenada como grasa mesentérica, como se aprecia en la siguiente tabla.

Tabla 6. Índices biológicos y composición corporal de los ejemplares alimentados con los dos piensos.

Porcentaje lípidos dieta	14%	22%
Factor de condición	2,17±0,19	2,25±0,17
Índice hepatosomático	0,93±0,20	0,89±0,19
Porcentaje de grasa mesentérica	1,84±0,47 ^a	2,67±1,13 ^b
Minerales	4,29±0,26 ^a	3,82±0,37 ^b
Humedad	62,67±1,45	60,99±1,67
Grasa	13,88±1,28 ^a	16,62±2,19 ^b
Proteína	18,93±0,20 ^a	18,16±0,46 ^b

Teniendo en cuenta que el precio del pienso es diferente y que también varía en índice de conversión, el coste (en cuanto a alimentación) de producir un kilogramo de pescado es inferior con la dieta de mayor contenido en lípidos. En una explotación tipo de 800 Tn/año, supone una disminución en los costes totales de la planta de 388.640 €. La alimentación en una planta de esta producción supone el 35% de los costes de explotación, por tanto una disminución del 26% en el coste del Kg de producto repercute en una disminución del 9% de los costes totales anuales.

Tabla 8. Rendimiento económico de los dos piensos.

Porcentaje lípidos dieta	14%	22%
IC	2,04	1,78
Coste pienso (€/kg)	0,91	0,77
Coste producto (€/kg pez)	1,85	1,37
Producción 800 toneladas		
Coste pienso total (€)	1.485.120	1.096.480
Disminución de coste		388.640
Porcentaje disminución coste		26,17

2.3.3.- Modelo econométrico de viabilidad/rentabilidad para el engorde de nuevas especies: caso del sargo picudo (*Diplodus puntazzo*).

Se diseñó y valoró económicamente una planta de engorde para 800 Tn en mar abierto, basada en la tecnología existente para el engorde de dorada. La planta cuenta con 12 jaulas de tipo circular flexible de polietileno con 10 metros de altura de red, y diámetro exterior de 22 m. También se han previsto 4 jaulas destinadas a clasificaciones y “purga” antes de la comercialización. El anclaje y balizamiento es el convencional para este tipo de instalaciones. El cultivo se inicia con 2.285.714 ejemplares de 15 g que entran en la instalación en dos lotes (abril y agosto) y son comercializados al año siguiente con un tamaño comercial de 360-400g. La mortalidad es del 10%, la carga máximo es de 17.5 Kg/m³, y como alimento se utiliza un pienso comercial para dorada.

Tabla 9. Valores de partida y rango de las variables para desarrollar el modelo econométrico.

	Valores de partida (dorada)	Rango de las variables
K (Euros)	1.053.190 (1)	842.552-1.263.828
i (%)	6	4,5-7,5
PV (Euros/Kg)	3.75-4,20	3,30-4,20
PA (Euros/individ.)	0.36	0,31-0,41
PP (Euros/Kg)	0.66	0,53-0,79

(1) Antes de impuestos.

Para calcular la inversión se han tenido en cuenta los siguientes capítulos: Instalación de jaulas, edificio multiuso, muelle, equipos y maquinaria, y varios (proyecto, concesión, estudio de impacto ambiental, etc.). Los flujos de caja se establecen para una vida útil de 18 años y se calculan a partir de los correspondientes cobros y pagos ordinarios y extraordinarios. Para realizar el análisis de sensibilidad se han utilizado las siguientes variables: Inversión (K), tipo de interés de mercado (i), precio mínimo de oferta del producto en Euros/Kg (PV), precio del alevín en Euros (PA) y precio del pienso en Euros/Kg (PP). Los rangos preestablecidos de las variables se muestran en la Tabla I. Se generaron 243 alternativas mediante el uso de las correspondientes hojas de cálculo, y los datos así obtenidos se ajustaron mediante el análisis de regresión múltiple a la siguiente ecuación: $Y = a + bK + ci + dPV + e PA + fPP$, 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.

Las ecuaciones obtenidas son las siguientes:

$$\text{VAN} = -68.649,41 - 1,60K - 435.304,66i + 7.534.200,65PV - 26.949.619,46PA - 17.761.915,45PP$$

($P < 0,001$; Error de la estimación = 542.900; $R^2_{aj.} = 0,979$)

$$\text{TIR} = 0,035 - 7,4710 - 8K + 0,203PV - 0,725PA - 0,482PP$$

($P < 0,001$; Error de la estimación = 0,020; $R^2_{aj.} = 0,959$)

Las ecuaciones son significativas ($P < 0,01$) y explican un 98% y 96% 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. En la alternativa de partida se utilizan como valores de las variables los precios actualizados en el engorde de dorada y, en estas circunstancias, el modelo estima para PV de 3,75 y 4,20 Euros un VAN de 2.467.017 y 5.857.407 Euros y un TIR de 13,78 y 22,91%, que son valores coherentes con la situación actual de la producción de dorada.

En una primera fase del desarrollo del cultivo del sargo picudo es probable que el PP y el PA sean iguales a los de dorada. En estas condiciones el precio mínimo para ofertar el producto al mercado con unos resultados de rentabilidad interesantes para el inversor (TIR=15%; que es la suma del interés de mercado más un interés debido al riesgo de esta inversión) es de 3,81 Euro. En una segunda fase del desarrollo, cuando haya una producción significativa de esta especie, es previsible que el precio del pienso descienda, ya que utiliza bien la proteína de origen vegetal, particularmente la harina de soja. Así pues, si fijamos el PV mínimo (3,81 Euro), el PA igual al de dorada, y el PP un 20% menor, el TIR sería del 21,26% que es un valor muy atractivo para los inversores. Obviamente, si PV es superior al mínimo la rentabilidad aumentaría. Por otro lado, si mantenemos el pienso un 20% más barato, para obtener una rentabilidad mínima del 15% de TIR, el precio mínimo de PV al cual se podría ofertar este producto al mercado sería de 3,5 Euros. De esta forma se pueden analizar numerosas circunstancias que pueden incluir también variaciones en la inversión y en el tipo de interés de mercado. El modelo econométrico es pues una herramienta de gran utilidad para evaluar la viabilidad/rentabilidad de las nuevas especies. Para cada especie, no obstante, hay que definir un sistema de explotación y las variables que interesen, así como el rango de éstas, en base a las características biológicas, de mercado, etc. de cada especie. El PA, por ejemplo, en el presente caso no parece tener mucha importancia, sin embargo en el caso de especies como el dentón o el pulpo, donde incluso a nivel experimental existen aún muchas lagunas en relación con el cultivo larvario y destete, puede ser un factor determinante, no sólo ya de la explotación en sí, sino también de los rangos de las otras variables.

DIFUSIÓN

3. Publicaciones y comunicaciones a congresos.

3.1. Publicaciones.

Cerezo, J. and García García, B., 2004. The effect of oxygen levels on oxygen consumption, survival and ventilatory frequency of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo* Gmelin, 1789) at different conditions of temperature and fish weight. *Journal of Applied Ichthyology* 20(6), 488-492.

Cerezo, J. and García García, B., 2004. Influencia del peso y la temperatura sobre el consumo de oxígeno de rutina del dentón común (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). *Revista AcuaTIC* 21, 15-22

Egea, M.A., Rueda González, F., Martínez López, F.J. y García García, B. 2002. Efecto de la realimentación tras un periodo de ayuno sobre el crecimiento en el sargo picado *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 18(1-4): 357-362.

Hernández, M.D., Martínez, F.J. and García García, B. 2002. Sensory evaluation of farmed sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture Internacional* 9: 519-529.

Hernández, M.D., Martínez, F.J. and García García, B. 2002. Evaluación de la aceptación del sargo picado por los consumidores. *Trouvit Informa, Primavera*: 30-31.

Hernández, M.D., Egea, N., Rueda, F.M., Martínez, F.J. and García García, B. 2002. Seasonal condition and body composition changes in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) raised in captivity. *Aquaculture*, 220: 569-580.

Mena Sellés, C. y García García, B. 2002. Importancia de la proteína vegetal en la dieta natural de poblaciones salvajes de sargo picado, *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777): sus implicaciones en el cultivo intensivo. *AquaTic*, 17: 1-11.

Rondán, M., Hernández, M.D., Egea, M.A., Velásquez, M., García García, B., Rueda, F.M., Martínez, F.J. 2003. Efecto de dietas comerciales con diferente relación proteína/energía sobre el perfil de ácidos grasos del sargo picado (*Diplodus puntazzo*). *CIVA 2003* (<http://www.civa2003.org>), 691-702.

Rondán, M., Hernández, M.D., Egea, M.A., García García, B., Jover, M., Rueda, F.M. y Martínez, F.J., 2004. Effects of fishmeal replacement with soybean meal as protein source, and protein replacement with carbohydrates as an alternative energy source on sharpsnout sea bream, *Diplodus puntazzo*, fatty acid profile. *Aquaculture Research* 35, 1220-1227.

Rondán, M., Hernández, M.D., Egea, M.A., García García, B., Jover, M., Rueda, F.M. and Martínez, F.J., 2004. Effects of feeding rate on fatty acid composition of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture Nutrition*, 301-307.

Rueda, F.M., Hernández, M.D., Egea, M.A., Aguado, F., García García, B. and Martínez, F.J. 2002. Differences in tissue fatty acid composition between reared and wild sharpsnout sea bream, *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *British Journal of Nutrition* 86: 617-622.

3.2. Comunicación a Congresos

Se presentaron las siguientes comunicaciones al IX Congreso Nacional de Acuicultura que se celebró del 12 al 16 de mayo de 2003 en Cádiz:

García García, J.; Rouco Yañez, A. y García García, B. modelo econométrico de viabilidad/rentabilidad para el engorde de nuevas especies: caso del sargo picudo (*Diplodus puntazzo*).

García García, B.; Hernández, M.D.; García García, J.; Martínez, F.J. y Jover, M. Desarrollo de modelos de crecimiento y tasa de alimentación en función de peso, temperatura y contenido de harina de soja en la dieta del sargo picudo (*Diplodus puntazzo*).

Hernández, M.D.; García García, B.; Martínez, F.J. y Jover, M. Efecto del contenido en lípidos de la dieta sobre el crecimiento y la composición corporal en el sargo picudo (*Diplodus puntazzo*).

Cerezo, J.; Martínez, F.J. y García García, B. Concentraciones crítica y letal de oxígeno y frecuencia de ventilación en el dentón común (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758): efecto del peso y la temperatura.

García García, B. y Cerezo, J. Efecto del peso del corporal y la alimentación sobre el consumo de oxígeno en el dentón (*Dentes dentex*), en condiciones experimentales de cultivo.

García García, B. y Cerezo, J. Variación del índice de condición en función del tipo de tanque de estabulación en el dentón (*Dentex dentex*).

Se presento la siguiente comunicación al congreso internacional "AQUACULTURE EUROPE 2004" que se celebró del 20 al 23 de octubre del 2004 en Barcelona.

F.M. Rueda, F.M., M.D. Hernández, M.A. Egea, B. García García and F.J. Martínez. Variations in plasmatic metabolites in sharpshout seabream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) growout in raceways.

3.3 Tesis Doctorales.

Jesús Cerezo Valverde. 2002. Factores que afectan al consumo de oxígeno, concentraciones crítica y letal de oxígeno, y frecuencia de ventilación en el sargo picudo (*Diplodus puntazzo*), el dentón común (*Dentex dentex*) y el pulpo de roca (*Octopus vulgaris*). Facultad de Biología, Universidad de Murcia.

INCIDENCIAS DE DESARROLLO

La mayor dificultad que se ha tenido para el desarrollo del presente proyecto ha sido la disponibilidad de alevines para realizar las distintas actividades propuestas. No se han podido obtener ejemplares de criadero ni procedentes

de centros de investigación ni de empresas, salvo unos 300 ejemplares que nos cedió el IEO de Murcia y con los que se realizó un trabajo. No obstante, se capturaron ejemplares del mar con los que se han realizado algunas de las actividades Sin embargo, como ya a mitad del proyecto entendimos que las actividades que se podían realizar eran insuficientes se optó por trabajar también con otra especie de espárido, el sargo picudo. Con esta especie trabajamos en años anteriores, se cultiva ya en Italia y Grecia y tiene un gran potencial en nuestro país. El crecimiento y los rendimientos son similares a los de dorada utilizando las dietas que existe para esta especie, pero su gran virtud reside en que utiliza satisfactoriamente la proteína de origen vegetal. En trabajos anteriores demostramos que una sustitución del 60% de harina de pescado por harina de soja no afecta significativamente al crecimiento. Mientras que las dietas para dorada no deben incluir más de un 20% de harina de soja. Dada la problemática actual referente a la escasez de harinas de pescado para la fabricación de piensos, las repercusiones económicas, actualmente y más aún en un futuro próximo, son de gran importancia.

- CA de Murcia. IEO. Subproyecto Dentón

OBJETIVOS INICIALES

Los objetivos que se proponen son los siguientes:

1. Estudio de la biología del esperma (volumen, concentración, movilidad, pH y composición del líquido seminal) a lo largo del periodo de puesta, como base para la determinación de criterios de calidad, manejo de gametos, formulación de diluyentes para inseminación artificial y almacenamiento, y condiciones físico-químicas para su conservación.
2. Desarrollo de técnicas de conservación de esperma de dentón a corto plazo. La preservación del esperma a corto plazo se puede usar en piscifactorías para sincronizar la maduración del stock de reproductores, transportar gametos o seleccionar reproductores.
3. Desarrollo de técnicas de crioconservación y estudio de la aptitud del esperma para su crioconservación
4. Estudio de la sexualidad del dentón en cautividad. Se realizarán ensayos para confirmar el hermafroditismo en juveniles en cautividad, estudiando la influencia de la temperatura y densidad de cultivo.
5. Establecimiento de condiciones ambientales óptimas en el cultivo larvario:
Influencia del fotoperiodo en la supervivencia y calidad de las larvas.
Influencia de la intensidad de luz en la supervivencia y calidad de las larvas.
6. Alimentación larvaria con presas vivas.
Identificación del punto de no retorno en larvas de dentón sometidas a inanición.

7. Determinación de la influencia de la densidad de presas vivas en el momento crítico de la primera ingestión larvaria

OBJETIVOS REALIZADOS

1. Obtención y mantenimiento de reproductores
2. Obtención y caracterización de esperma de dentón
3. Estudio de la sexualidad del dentón en cautividad
4. Biometría y crecimiento
5. Cultivo larvario: Estudio de factores ambientales (intensidad de luz) y alimentación

METODOLOGÍA

REPRODUCCIÓN

Estudio de las características y calidad del esperma de denton y el desarrollo de técnicas de conservación del mismo.

El esperma de dentón se obtuvo de 34 ejemplares del stock de reproductores existentes en la planta de Cultivos Marinos de Mazarrón (17% salvajes, carga 2,12 kg/m³). Todos los peces se muestrearon quincenalmente durante el periodo de puesta -desde principios de marzo hasta principios de junio- y los machos se marcaron con un microchip a fin de individualizar las muestras de esperma y así valorar las posibles diferencias de calidad entre los animales. Los ejemplares se anestesiaron con MS 222. El esperma se obtuvo por suave presión abdominal y después de eliminar la orina y secar el poro genital se recogió en jeringas estériles de 1-2 ml.

En cada muestra de esperma se determinó el volumen, pH y concentración de espermatozoides (cámara de Neubuer). El movimiento del esperma se determinó asignando una puntuación de 0 (no se movía ningún espermatozoide) a 5 (todos los espermatozoides se movían rápidamente) y midiendo el tiempo transcurrido entre la activación y el cese de desplazamiento lineal de los espermatozoides. El resto del esperma se centrifugó a 8000 r.p.m. durante 10 minutos y el líquido seminal obtenido se congeló hasta su análisis. Se determinaron proteínas totales (Lowry *et al.*, 1951), iones sodio y potasio (fotometría de llama), ión cloruro (espectrofotómetro CECIL 2021 y kit comercial Sigma Diagnostic Cloruro 461) y osmolaridad (osmómetro)

Estudio de la sexualidad del dentón en cautividad.

Para la determinación del porcentaje de hembras, machos, intersexos e indiferenciados, talla y edad de maduración del dentón, en cautividad, se procedió del modo siguiente:

Todos los ejemplares estudiados procedían de puestas naturales obtenidas de reproductores mantenidos en cautividad en la planta de cultivos marinos de

Mazarrón (IEO) donde se realizó el cultivo larvario en tanques de 1 m³. Posteriormente el cultivo se continuó en tanques de 7 m³ y de 15 m³.

Los muestreos se iniciaron a mediados de julio de 2001 cuando las alevines tenían una edad de 72 días (2 meses y medio) y se continuaron con periodicidad diferente (mensuales en peces de menor talla y bimensuales o trimestrales en peces mayores) hasta abril de 2003 cuando los peces tenían una edad de (672 días) 22.5 meses. En total se muestrearon 165 ejemplares de diferentes edades conocidas. Se controló talla y peso total, peso de la gónada para determinar el índice gonadosomático (IGS) y también se determinó el peso del hígado para conocer igualmente la evolución de índice hepatosomático (IHS). Se tomó una muestra de la gónada de cada ejemplar que después de procesada se utilizó para la observación microscópica de cortes histológicos. Los datos obtenidos de peso y talla junto el conocido de la edad se utilizaron para obtener la curva de crecimiento de dentón en cautividad y la relación talla/peso.

Se estableció la distribución de sexos por clases de talla, por peso y por edades en condiciones de cultivo (temperatura ambiente). Para ello se muestrearon dentones de las siguientes clases de edad en meses: 2.5- 3, 5- 6.5 meses , 7.5, 9, 11, 13, 15, 16, 18,5, 20,5, 22.5.

Se determinó la relación macho/hembra en los diferentes muestreos y en el cómputo general de individuos muestreados

CULTIVO LARVARIO

Estudio de factores ambientales:

Intensidad lumínica. Se determinó la intensidad lumínica más adecuada en un cultivo larvario de dentón. Se procedió de la forma siguiente: se probaron 4 intensidades diferentes, 200, 400, 800 y 1200 lux. Todos los ensayos se hicieron por duplicado en tanques de fibra de vidrio de 1 m³. La temperatura, se fijó en 20-22°C y el fotoperiodo fue 18L/6O. Cada tanque dispuso de una lámpara de luz incandescente, situado a 50 cm de la superficie del agua, con un potenciómetro que proporcionó las diferentes intensidades lumínicas requeridas. La densidad inicial de cultivo fue de 50 huevos/l y la alimentación fue a base de rotífero, desde la apertura de la boca hasta el día 18, y de nauplii de Artemia del día 15 al 20 en que finalizó la prueba. Cada 2 días se muestreó para determinar talla y porcentaje de larvas con vejiga natatoria. Al final de la experiencia se controló, además, peso y supervivencia. Los resultados, se compararon estadísticamente mediante un análisis de la varianza ANOVA (nivel de significación 0.5) y test de Tukey.

Estudios de alimentación larvaria. Alimentación con presas vivas

- Punto de no retorno.

Para identificar el punto de no retorno en larvas de dentón sometidas a un proceso de inanición, se procedió del modo siguiente: A diferentes temperaturas de cultivo, 18 y 19° C, se ofreció rotífero por primera vez a una

concentración de 5 rotíferos /ml, a las larvas a partir del 4 día de vida hasta la muerte por inanición (4,5,6,7,8,9 10 días). A las 6 horas las larvas fueron anestesiadas y almacenadas en en formol al 4%. Posteriormente se analizaron, bajo lupa binocular, los contenidos estomacales de 50 larvas de cada uno de los tratamientos y se calculó el porcentaje de larvas alimentadas y el número de rotíferos ingerido por larva. La tasa de alimentación se calculó por el porcentaje de larvas que contenían alimento y también fue determinado el número de rotíferos por larva. Las pruebas a las diferentes temperaturas, se realizaron por triplicado en tanques cilíndricos de 20 litros de capacidad.

-Influencia de la densidad de presas vivas en el momento crítico de la primera ingestión larvaria.

Se determinó la cantidad mínima de rotífero (n° rot/ml en el tanque de cultivo) necesaria para que todas las larvas lo ingieran. Las larvas utilizadas en este experimento se obtuvieron de puestas naturales de reproductores mantenidos en cautividad. Se ofreció rotífero por primera vez a las larvas a concentraciones de 1, 2.5, 5, 7.5 y 10 rotíferos por ml a las edades de 2, 3, 4, 5 y 6 días y a tres temperaturas diferentes: 19, 21 y 22,5 ° C. Cada uno de los tratamientos se realizó por triplicado en tanques cilíndricos de 20 litros de capacidad, con aireación suave, en los que se pusieron 450 larvas. A cada tanque, se le suministró, junto con el rotífero se le añadió fitoplancton (*Teraselmis* sp) a una concentración de 50.000 células por ml. Las larvas se mantuvieron durante 6 horas en el medio con el alimento y posteriormente se fijaron en formol al 4%, después de anestesiarlas con MS 222, para el estudio posterior de sus contenidos estomacales con el fin de contabilizar el rotífero ingerido. De cada una de los tratamientos se analizaron, bajo lupa binocular, 50 larvas y se calculó el porcentaje de larvas alimentadas y el número de rotíferos ingerido por larva.

Los resultados se compararon estadísticamente mediante el análisis de la varianza ANOVA.

RESULTADOS

-REPRODUCCIÓN:

- **Ampliación y mantenimiento del stock de reproductores.**

- **Caracterización del esperma de dentón (volumen, densidad, movilidad y pH)**

Durante el periodo de estudio la temperatura varió desde 15,9 °C a principios de marzo hasta 23°C a principio de junio.

Los datos generales del esperma, expresados como media \pm std, se dan en la tabla I. La concentración media de espermatozoides y el análisis de la varianza indican que no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) a lo largo del periodo estudiado. En rodaballo (Suquet *et al.*, 1998) y lubina (Fauvel *et al.*, 1999) si se han encontrado variaciones en la concentración de espermatozoides

principalmente en los periodos anteriores y posteriores a la puesta. El volumen medio de esperma por macho y por muestreo fue de 1,9 ml., variando de 0,1 a 8,8 ml. Existe correlación ($p < 0.001$., $r = 0,858$) entre el volumen total de esperma y el peso de cada macho.

La intensidad de la movilidad es buena en la mayoría de las muestras ($2,8 \pm 0,9$). El movimiento de los espermatozoides de dentón se mantiene a una velocidad constante desde la activación hasta que decae bruscamente. La duración del movimiento es $4'56'' \pm 2'55''$ permite un periodo de fertilización del esperma relativamente alto que compensaría la moderada concentración de espermatozoides encontrada.

El líquido seminal supone el 18% del total del semen. El contenido en proteínas totales, osmolaridad e iones cloruro, sodio y potasio estan en los rangos encontrados para otras especies de peces marinos (Suquet *et al.*, 1994). No se ha encontrado ninguna correlación entre los componentes del líquido seminal, ni entre estos y la concentración de espermatozoides.

Tabla I

VOLUMEN (N= 54)	1.9±1.9
PH (N= 44)	7.85±0.34
CONCENTRACIÓN (N= 52)	8.28±2.53 x 10 ⁹ SPZ/ML
MOVILIDAD (N= 49)	2.8±0.9
DURACIÓN (N= 49)	4'56"±2'55"
PROTEÍNAS (N= 23)	7.19±3.45
PRESIÓN OSMÓTICA (N= 32)	396±28 MOSMOL/KG
CLORUROS (N= 26)	162,7±19,1 m mol/l
SODIO (N= 11)	183±9.1 m Eq/l
POTASIO (N= 10)	3.3±0.59 m Eq/l

Estos primeros resultados son una primera aproximación al conocimiento de la fisiología del esperma de dentón, siendo necesario abordar mas estudios que permitan desarrollar protocolos de conservación (crioconservación) y de inseminación artificial para mejorar la gestión de gametos en esta especie.

Estudios de la sexualidad del dentón en cautividad

Se estudió la evolución de la sexualidad en cautividad desde los 70 a los 700 días.

En diferentes fechas de julio de 2001 se muestrearon un total de 30 ejemplares (72- 80 y 92 días) siendo todos ellos indiferenciados. En agosto se muestrean 20 ejemplares (edad 100 y 109 días), 10 a finales de septiembre a la edad de 151 días (5 meses) con un peso medio de 36,16 g y 10 en noviembre a la edad de 192 días (6.5 meses) y con un peso medio de 84.4 g: todavía

aparecen indiferenciados el 100% de los peces. Por primera vez a la edad de 228 días (7.5 meses) con un peso medio de 114 g aparece la gónada de parte de los individuos muestreados diferenciada (observaciones de cortes histológicos al microscopio óptico). A esta edad aparecen un 60% de indiferenciados, 30% de machos y un 10% de individuos hermafroditas (M-H) o bisexuales.

En enero de 2002 a la edad de 267 días (9 meses) con un peso medio de 143,7 g encontramos 70 % de hembras, 2% de hermafroditas y 10% de indiferenciados.

A finales de marzo a la edad de 334 días (11 meses) con un peso medio de 143,5 los ejemplares con gónada femenina representan el 60% siendo el 30% machos y el 10% indiferenciados. A finales de mayo cuando tienen 13 meses (389 días) y un peso medio de 201,5 g las gónadas de ejemplares muestreados son 50 % hembras, 30 % machos y 20 % indiferenciados. A finales de julio a la edad de 15 meses y cuando tienen un peso medio de 306 g la proporción de sexos es de 50% hembras, 30% machos, 10% hermafroditas y 10% indiferenciados. A esta edad se observa que vuelven a aparecer gónadas bisexuales

A primeros de octubre a la edad de 16 meses con un peso medio de 387 g (60% hembras, 20% machos y 10% indiferenciados).

A mediados de diciembre y a la edad de 18,5 (pm de 451 g) meses ya no aparecen indiferenciados, el porcentaje de hembras es del 20% y los machos representan el 80%.

En febrero de 2003 a los 20 meses y medio (peso medio de 499 g) aumenta considerablemente la proporción de hembras (70%) siendo el 20% de los ejemplares machos y aparece de nuevo el 10% de hermafroditas.

A primeros de abril de 2003 se realizó el último muestreo. El peso medio de los ejemplares fue de 566 g y la proporción de sexos : 60% hembras, 30% machos y 10% hermafroditas .

En un muestreo posterior realizado en junio cuando habían sobrepasado la edad de dos años la proporción de sexos fue de 60% hembras y 40 % machos. En la figura 1 se puede observar la evolución del porcentaje de machos, hembras, bisexuales e indiferenciados desde los 7.5 meses, edad en que se aprecia por primera vez diferenciación sexual

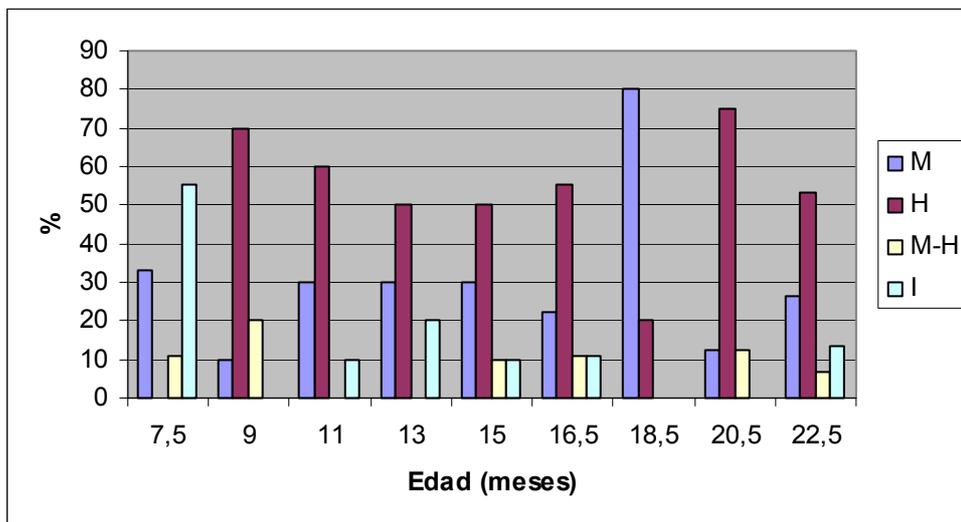


Figura 1. Evolución de proporción de sexos por edades (meses) en el dentón en cautividad

En estas condiciones de cultivo las hembras muestran una predominancia en todas las edades (a excepción de a la edad de 18,5 meses en que dominan los machos)

En cuanto al sex ratio (relación macho/hembra) en la mayoría de edades y clases de talla la proporción de hembras es mayor excepto a lo 228 días y en diciembre a los 18.5 meses en que predomina el número de machos. En los dos últimos muestreos en abril y junio las relaciones fueron de 1/2 y de 1/1.5 En el conjunto de los ejemplares el sex/ratio fue de 1 macho/1.58 hembras.

Las gónadas primordiales sin diferenciar los observamos por primera vez a los 72 días de edad (figura 2) y durante los primeros 100 días de vida no se detectó ningún caso de hermafroditismo.

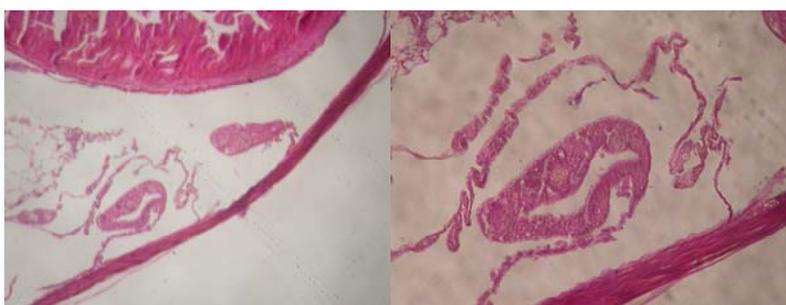


Figura 2. Gónadas primitivas sin diferenciar en juveniles de 72 días

Esta misma evolución por clases de talla la podemos observar en la figura 3. En la clase de talla 170-190 aparece por primera vez ejemplares bisexuales, que volvemos a encontrarlos en las clases de talla 210-230, 250-290, 310-330). Las hembras muestran una predominancia en todas las clases de talla dominando completamente en las clases de talla superiores (figura 3)

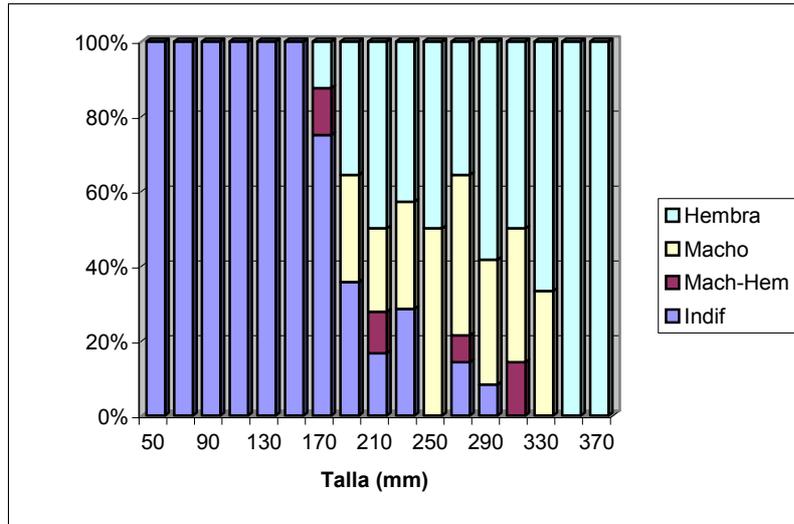


Figura 3. Proporción de sexos por clases de tallas (mm) en el dentón en cautividad

El índice gonadosomático (figura 4) alcanza su valor mas alto en el mes de abril coincidiendo con la época en que las puestas empiezan a ser mas intensas.

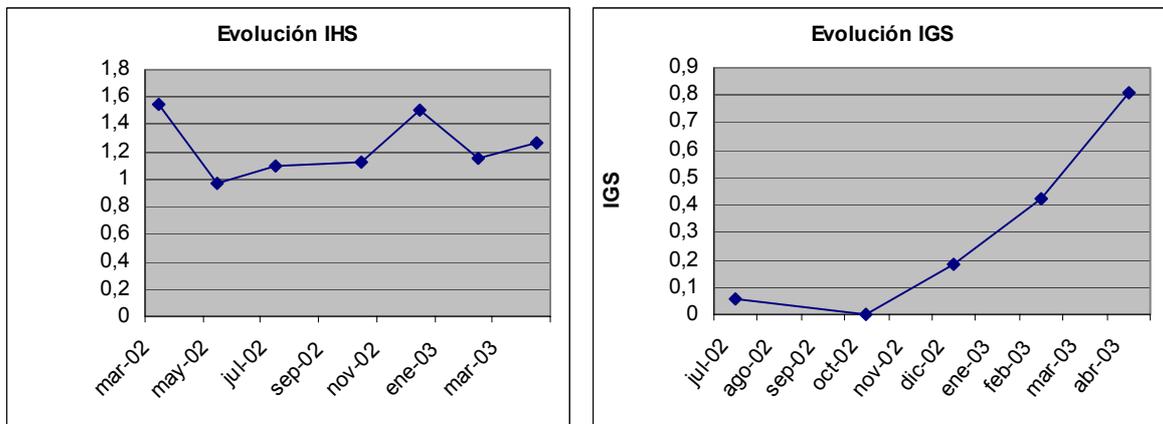


Figura 4. Evolución de los índices hepatosomático (IHS) gonadosomático (IGS) durante el período de estudio

La relación talla/peso (figura 5) se ajusta al curva potencial de ecuación $y = 0,0122x^{3,0783}$ ($R^2 = 0,9953$)

El crecimiento en cautividad (figura 5) se ajusta a una curva potencial de ecuación $y = 0,0002x^{2,3538}$ ($R^2 = 0,9644$)

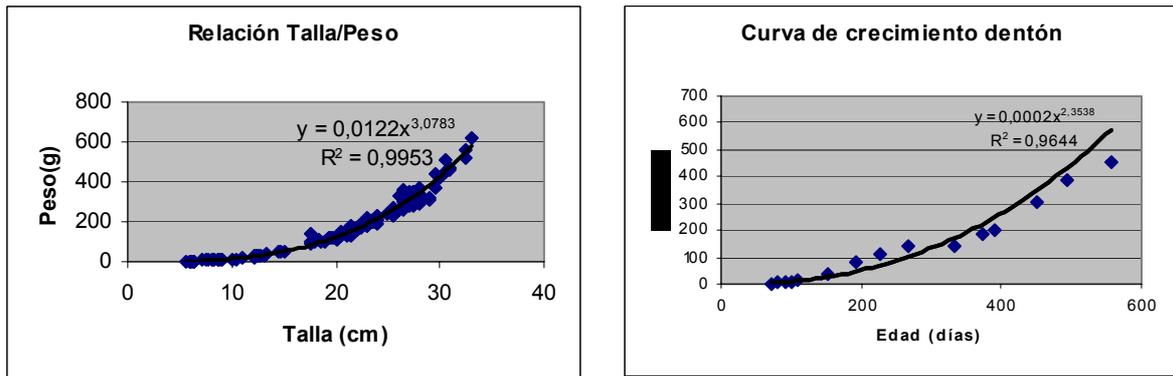


Figura 5. Relación talla/peso y curva de crecimiento del dentón en cautividad

CULTIVO LARVARIO:

Alimentación:

- Punto de no retorno:

Durante el experimento se observó que el 100% de las larvas tenía el estómago vacío al tercer día a 18°C y al segundo día a 19°C. El primer alimento fue ingerido al cuarto día a 18°C y al tercer día a 19°C. El mayor número de rotíferos por larva lo encontramos a la temperatura de 19° C . En el quinto día a 18°C y en el cuarto día a 19°C encontramos el mayor número de presas en las larvas. Al octavo y al noveno día los estómagos están vacíos a 19°C y 18° C respectivamente.

A la temperatura de 18°C, la muerte por inanición se produce a los 11 días desde la eclosión. El punto de no retorno definido como el momento en que la tasa de alimentación de las larvas es la mitad de su valor máximo inicial se produce a los 7 días (6.9) (figura 6). A 19°C, la muerte por inanición se produce a los 10 días y el punto de no retorno tiene lugar a los 5.2 días (figura 6).

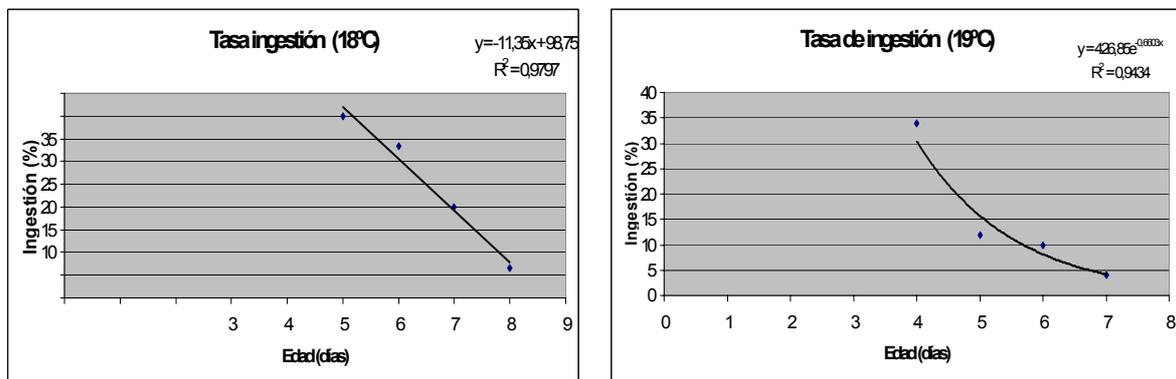


Figura 6. Tasa de ingestión de las larvas alimentadas por primera vez tras diferentes días de ayuno a diferentes edades a 18 y 19° C. Se muestra la ecuación y coeficiente de correlación para cada curva

- Influencia de la densidad de presas vivas en el momento de la primera Ingestión larvaria :

Las larvas de dentón, en todos los casos, comienzan a alimentarse en el momento de la apertura de la boca; al tercer día tras la eclosión a 19°C y al segundo día tras la eclosión a 21 y 22.5° C. Desde este momento las larvas fueron capaces de capturar el alimento a cualquiera de las densidades ensayadas. Los mayores porcentajes de larvas alimentadas lo encontramos en el cuarto día a 19° C, el tercer día a 21° C y el segundo día a 22.5° C. A partir concentraciones de 5 rotíferos/ml se incrementa considerablemente el porcentaje de larvas que han ingerido alimento siendo significativamente diferente ($p < 0.05$) si comparamos con las concentraciones de 1 y 2.5 rotíferos/ml a las tres temperaturas estudiadas (figura 7). A la edad de 6 días a 19° C y a la de 5 días a 21 y 22.5° C, las larvas han perdido prácticamente la habilidad para capturar la presa.

Por lo que respecta al número de rotíferos ingeridos por las larvas, únicamente a la mínima concentración suministrada de 1 rotífero/ml, los resultados son significativamente inferiores ($p < 0.05$) que en el resto de las concentraciones a las temperaturas de 19°C y 22.5°C (figura 7).

Los valores máximos de presas ingeridas corresponden al cuarto día de vida de las larvas a 19°C, al tercer día a 21°C y al segundo a 22.5°C, lo que coincide con los mayores porcentaje de larvas alimentadas.

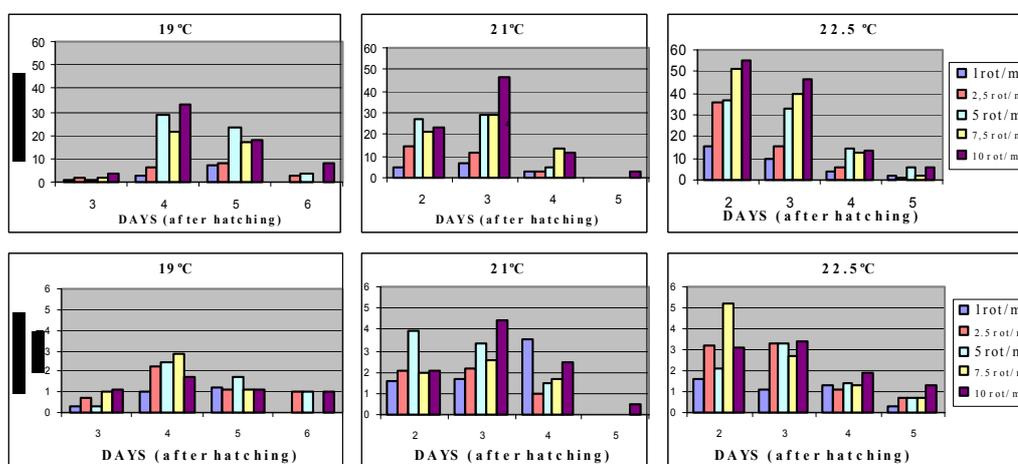


Figura 7. Porcentajes de larvas alimentadas y número medio de rotíferos ingeridos por larva, recibiendo diferentes concentraciones de rotífero, a 19°C, 21°C y 22.5°C

Conclusiones:

- En el cultivo larvario de dentón la densidad inicial de rotífero no debe ser inferior a 5 rotíferos/ml
- La larva de dentón comienza a comer el tercer día después de la eclosión a 19°C y al segundo día a 21°C y 22.5°C
- El momento en que las larvas se alimentan mas eficazmente por primera vez corresponde a los días 4 y 5 de edad a 19°C y a los 2 y 3 días de edad a 21 y 22.5°C

- Para obtener resultados mas concluyentes, sería aconsejable ensayar densidades de rotífero superiores a 10 rotíferos/ml

Condiciones ambientales:

Intensidad lumínica:

En la figura 8 se muestra la evolución del crecimiento en talla de las larvas a las diferentes intensidades lumínicas. En cuanto a las tallas medias finales de las larvas (figuras 9 y tabla II) son muy similares no encontrándose diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los distintos tratamientos.

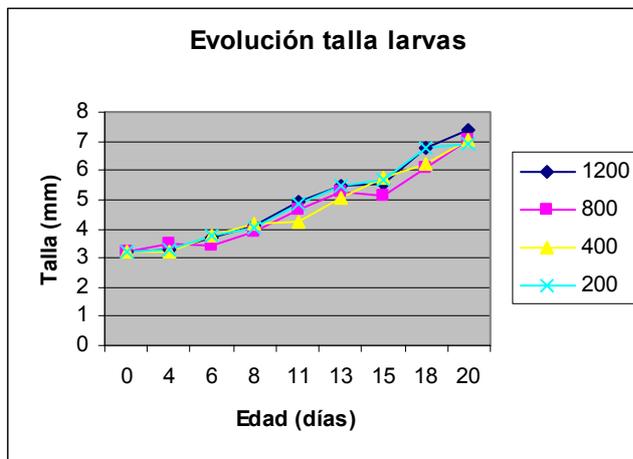


Figura 8. Talla media de las larvas a diferentes edades

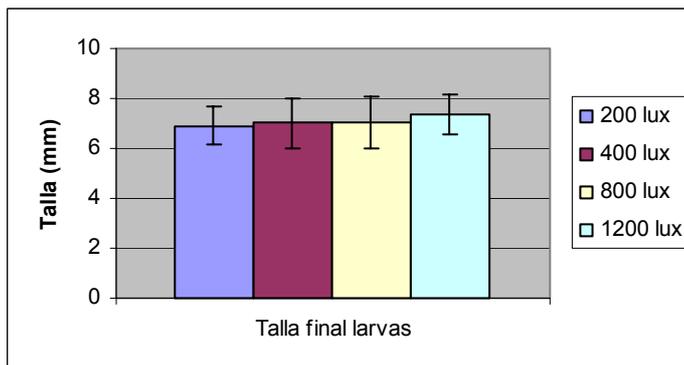


Figura 9. Talla media final de las larvas a las diferentes intensidades

Tabla II. Talla final de las larvas (media±S.D.;superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0.05))

Intensidad (lux)	Talla larvas (mm)
200	6.9±0.77 ^a
400	7.01±0.97 ^a
800	7.05±1.06 ^a
1200	7.37±0.83 ^a

Los mejores resultados en cuanto a supervivencia se obtuvieron cuando se utilizaron intensidades de 200 lux (5%). En el resto de los tratamientos la supervivencias finales oscilaron entre 1.7% y 3% (tabla III)

Tabla III. Supervivencia final (media±S.D.;superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0.05))

Intensidad (lux)	Suprvivencia final (%)
200	4.5± ^b
400	1.7± ^a
800	2.1± ^{ab}
1200	2.9± ^{ab}

La luz interviene directamente en la primera inflación de la vejiga natatoria. A mayor intensidad (1200 lux) la inflación ocurre antes. A la edad de 9 días (entre el 25% y el 30% de las larvas tienen vejiga) aparece la vejiga en el 25% de las larvas a intensidades de 1200 y 800 lux mientras que a las intensidades de 400 y 200 lux sólo tienen vejiga el 10% de las larvas. Esta tendencia se invierte a al edad de 15-16 días y aparece un mayor porcentaje de larvas con vejiga en los tratamientos de 400 y 200 lux. Al final del experimento a los 20 días de edad, existen diferencias significativas (p<0.05) en el porcentaje de inflación entre los distintos tratamientos y los mejores resultados del 100% de larvas con vejiga se consiguen a la intensidad de 1200 lux (tabla IV)

Tabla IV. Inflación final de vejiga. Porcentaje de larvas con vejiga(media±S.D.; superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0.05))

Intensidad (lux)	Inflación vejiga (%)
200	98.3±2.9 ^{bc}
400	83.5±6.1 ^a
800	86.7±11.5 ^{ab}
1200	100±0.0 ^c

DIFUSIÓN

Rasines, I, Abellán, A y Delgado, J. (2001).- Características del esperma de dentón (*Dentex dentex*). Poster presentado al VIII Congreso Nacional de Acuicultura, Santander, mayo 2003

Abellán, E., Arizcun, M., Nortes, M.D. y García-Alcázar, A. (2004).- Effect on prey density on the first feeding of common dentex (*Dentex dentex*). Congreso Internacional "AQUACULTURE EUROPE 2004". Barcelona, octubre 2004

- CA de Valencia. Subproyecto Dentón

OBJETIVOS INICIALES

1. Mejorar y renovar los stocks de reproductores
2. Optimizar el cultivo larvario, con una mejor definición de la temperatura óptima de cultivo y de los protocolos de suministro y calidad de presas vivas
3. Durante el preengorde y engorde, determinar el efecto de la temperatura de cultivo y de las condiciones del larvario sobre el potencial de crecimiento y el estado del sistema inmunológico
4. Definir la importancia relativa de agentes patógenos, especialmente los considerados oportunistas (*Vibrio harvey*), asociados a morbilidad y mortalidad

OBJETIVOS REALIZADOS

Se han realizado el 80 % de los objetivos planteados inicialmente

METODOLOGÍA

La metodología para la producción de presas vivas y su enriquecimiento se describe a continuación, siguiendo las recomendaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

FITOPLANCTON

La selección de especies de fitoplancton debe plasmar un doble propósito, por un lado el establecimiento de condiciones óptimas de cultivo y por otro, poseer elevados valores nutricionales.

Las especies que se utilizaron fueron *Nannocloropsis gaditana*, *Tetraselmis suecica* y *Scenedesmus obliquus*, ampliamente reconocidas como fuentes de elevado contenido en ácidos grasos esenciales (Choi *et al*, 1987; Fábregas *et al*, 2001; Brown, 2002; Rocha *et al*, 2003) . Los valores nutricionales de estas especies se describen en la tabla 1.

La combinación de las dos primeras especies proporcionó un medio apropiado para el cultivo de rotíferos a 25 ppm de salinidad.

Nannocloropsis gaditana y *Tetraselmis suecica* se utilizaron como *green water* en las fases iniciales del cultivo larvario.

Cultivo de rotíferos

El cultivo se realizó con la cepa pequeña S (130 μm) de rotífero (*Brachionus rotundiformis*) como primer alimento vivo y posteriormente con la cepa grande L (240 μm) (*Brachionus plicatilis*).

Los parámetros de cultivo se conservaron en los rangos óptimos para obtener grandes porcentajes de crecimiento de la biomasa. Estos parámetros son, altas concentraciones de oxígeno, entre 4 y 8 mg / L; temperatura de 25° C; pH entre 7.5 y 8.5; salinidad de entre 20 y 30 ppm; turbulencia moderada y luz si se cultivan con microalgas. Para establecer los niveles de oxígeno y turbulencia en los tanques y los matraces se dispusieron aireaciones hasta alcanzar estos valores. La temperatura se consiguió con calentadores termostatzados. El pH y la salinidad adecuadas se logró con la mezcla de fitoplancton en el cultivo en matraces y, para el cultivo en tanques mediante la mezcla de agua de mar y agua potable esterilizada con luz ultravioleta. Se mantuvo siempre un fotoperíodo de luz natural con intensidad entre los 1.500 y 3.000 lux.

Para el cultivo en masa de rotíferos se siguió un protocolo de escalada sucesiva. En primer lugar el inóculo se dividió en varios matraces Erlenmeyers de 250 ml. Posteriormente se aumentó a volúmenes sucesivos de 500 ml, 2 L, 5 L y 8L. Este último se utilizó para comenzar la producción en masa en los tanques en los que se fue aumentando el volumen hasta los 70 L. Aunque estos volúmenes pudieron aumentarse, no se consideró necesario. Se estimó más oportuno renovar las biomásas que mantener grandes volúmenes y así evitar colapsos del cultivo.

El cultivo en escala comenzó con densidades de 1,5 rotíferos / ml en los matraces de 250 ml. Cuando alcanzó los 10 a 20 rotíferos / ml se inóculó en matraces de 500 ml. Al obtener concentraciones que rondaron los 100 - 150 rotíferos /ml se aumentó el volumen a 2 L y así sucesivamente para los volúmenes de 5 y 8 L. La concentración media en los tanques de cultivo alcanzó los 450 rotíferos/ ml, suficiente para satisfacer el consumo larvario.

En el cultivo madre se utilizó aproximadamente un 10% del volumen de los matraces para continuar el ciclo. Así, se mantuvo un promedio de 2.49 rotíferos / huevos como estima de la fertilidad del cultivo.

Diariamente se tomaron datos de temperatura, volumen, concentración (rotíferos / ml), número de huevos, condiciones de nado y existencia de contaminantes del cultivo (ver tabla 2).

El valor nutricional de los rotíferos depende del medio de cultivo puesto que son filtradores pasivos. Para las primeras fases se utilizó fitoplancton *Nannocloropsis gaditana* y *Scenedesmus obliquus*. Las concentraciones de ambas algas oscilaron entorno a las 400.000 células / ml. Durante el cultivo en tanques se utilizó una dieta artificial para el crecimiento en masa, ROTIMAC Bio – Marine Aquafauna. Por otro lado, para el enriquecimiento y posterior alimentación de las larvas de dentón se utilizó otra dieta basada en la microalga *Schizochytrium*, ALGAMAC 3050 Bio – Marine Aquafauna. Los rotíferos fueron enriquecidos siempre cuando se encontraban en la fase exponencial del cultivo.

Se realizó un análisis en condiciones controladas del valor nutricional de rotíferos enriquecidos con Fitoplancton, Rotimac y Algamac.

Cultivo de copépodos

Los inóculos de *Cletocamptus retrogressus* fueron recogidos en diferentes áreas de la Península, Laguna Salada de Pétrola (Albacete), Salina de Calpe (Alicante) y Marjal del Moro (Valencia). El inóculo de *Tisbe sp* se obtuvo del Centro de Acuicultura del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries. Los copépodos fueron cultivados en bandejas con volumen de 1 litro en los primeros estadios naupliares y posteriormente en cilindros cónicos de hasta 6 litros. Se mantuvo la concentración de oxígeno disuelto (80%) y leve circulación mediante una ligera aireación en el fondo del cilindro.

El medio de cultivo básicamente consistía en *Tetraselmis suecica* a una concentración que fue mantenida alrededor de las 620,000 células / ml. Esta microalga se eligió para el cultivo porque sedimenta fácilmente y es buen alimento para especies bentónicas. La salinidad era de 36 ppm y el pH osciló entorno a 8,15.

El medio se cambió cada 7 días, tiempo en el cual la mayor parte de los nauplios han alcanzado el estado adulto y han comenzado a reproducirse. Así, se filtraban a través de una malla de 160 µm dividiendo los copepoditos, que se cultivaban en los cilindros a temperatura ambiente (15° -18° C), de los nauplios, que se cultivaban en bandejas a temperatura controlada de 24° C.

CULTIVO DE ARTEMIA

Nauplios y Biomasa

La eclosión de quistes de *Artemia franciscana* AF (INVE Ghent, Belgium) se realizó diariamente en recipientes cilindro - cónicos de cristal de volumen de 1 L, utilizando agua de mar filtrada y esterilizada.

Las condiciones de eclosión fueron, temperatura de 28 ± 1° C, mantenida mediante baño termostático, fuerte aireación y luz fluorescente constante.

A las 24 horas los nauplios fueron separados de los quistes y metabolitos de eclosión mediante filtrado en malla de 60 µm y doble decantación en agua dulce y agua de mar.

Una vez en agua de mar se realizó el recuento y, o bien se administraban a las larvas de menor edad, o se enriquecían para posteriormente suministrar a larvas de mayor tamaño.

El enriquecimiento se efectuó con el producto comercial DC SuperSelco (INVE Ghent, Belgium), emulsionado en agua de mar con batidora durante 1 minuto, a concentración de 0,6 gramos / L y densidad de nauplios de 200.000 individuos / L.

Para la obtención de *Artemia* adulta se eclosionaron quistes utilizando el método descrito en el apartado anterior.

Durante el periodo de crecimiento de los nauplios se les suministró *Tetraselmis suecica* en los primeros días. Sucesivamente se les suministró una mezcla de *Tetraselmis suecica* y *Dunaliella sp.*, con el fin de aumentar la salinidad del medio y favorecer el crecimiento y la maduración.

Una vez alcanzada la maduración los adultos fueron enriquecidos cada 24 horas con el producto comercial ALGAMAC 3050 (*Schizochytrium sp.* Aquafauna Bio-Marine, USA) emulsionado en agua de mar a 0,3 gramos / L y densidad de 100 artemias por litro.

Cultivo de dentón común (*Dentex dentex*)

Los huevos de dentón (*Dentex dentex*) se obtuvieron de tres puestas diferentes (A, B y C) procedentes del Centro de Acuicultura del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries. La estima de huevos por puesta fue de 80.000, 120.000 y 100.000 respectivamente. Las puestas fueron divididas en dos y previa aclimatación colocadas en los tanques correspondientes.

El cultivo del dentón (*Dentex dentex*) se efectuó en circuito cerrado en tanques cilindro - cónicos de fibra. El agua de mar se trató con filtro biológico y filtros de algodón de 10 µm. Los animales mantenidos a temperatura cálida – ambiente se cultivaron en tanques de 120 litros y color azul celeste. Por otro lado, se cultivaron peces a baja temperatura en tanques de 90 litros y color azul marino. Para mantener las temperaturas en los respectivos circuitos se utilizaron un calentador (20° C) y un sistema de refrigeración (16° C). Toda la fase de cultivo siguió un fotoperiodo natural con luz fluorescente durante las horas de trabajo y luz natural el resto del tiempo. La incubación se llevó a cabo en agua marina a 36-37 ppm de salinidad y los niveles de oxígeno por encima de los 6.5 ppm (Cerezo *et al*, 2003) mediante una leve aireación y suave flujo de agua.

Durante el periodo de incubación, para evitar pérdidas de individuos debidas a la circulación se utilizaron mallas de 60 µm (Glamuzina *et al*, 1989). Diariamente se sifonaron los volúmenes de huevos no viables sedimentados en el fondo de los tanques. Además, para predecir el momento de eclosión de las larvas se siguió el esquema de desarrollo embrionario, con 12 fases, de Saka *et al* (2004). Durante la fase de eclosión se aumentó el caudal para eliminar los productos de la eclosión.

El cultivo larvario se llevó a cabo en los mismos tanques debido, al corto periodo de incubación de las puestas a 20° C y con el fin de equiparar el tratamiento en las larvas cultivadas a 16° C, y evitar factores de estrés por manipulación.

El oxígeno se mantuvo también por encima de los 6.5 ppm (Cerezo *et al*, 2003), pero tanto la aireación como el flujo de agua fueron incrementándose según la edad de las larvas. Diariamente se limpiaron los tanques mediante un sifón de 1 cm diámetro con malla para evitar pérdidas de ejemplares. Se tomaron datos (ver tabla 3) de temperatura, oxígeno disuelto, pH, estado de desarrollo y cantidad de presas vivas tanto ofrecidas como sobrantes.

La secuencia de alimentación y las concentraciones de las presas vivas se establecieron en función de los datos bibliográficos y del desarrollo larvario. Desde la eclosión hasta la pigmentación del ojo, se añadieron al medio de cultivo microalgas de las especies *Nannocloropsis gaditana* y *Tetraselmis suecica*.

Tras la apertura de la boca, las larvas fueron alimentadas con rotíferos de cepa pequeña (*Brachionus rotundiformis*), enriquecidos con ALGAMAC 3050, hasta que el tamaño de la boca y movilidad de las larvas permitió proporcionar rotífero de cepa grande (*Brachionus plicatilis*). La concentración media ofrecida fue de 15 rotíferos / ml (Estévez & Vallejo, 2003) a 20 rotíferos / ml (Abellán *et al*, 2000b). Esta concentración se mantuvo los primeros días de cultivo ajustándola diariamente según el remanente en el tanque.

Tras la formación de la vejiga natatoria y diferenciación de aletas se suministraron nauplios de *Artemia* AF (INVE Ghent, Belgium). La concentración inicial fue de 0,2 nauplios / ml mientras se solapó con los rotíferos, posteriormente se incrementó paulatinamente.

En la fase de alimentación con rotífero se utilizó malla de 60 µm para evitar la pérdida de éstos. En la fase de combinación rotíferos – *Artemia* AF se utilizó malla de 200 µm. En la fase de *Artemia* AF enriquecida la luz de malla fue de 300 µm. Posteriormente se cambió a 1mm cuando se combinó biomasa de *Artemia* y pienso microparticulado.

ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

Para el análisis de lípidos totales y ácidos grasos se utilizó el método de Folch, transmetilación directa, purificación en cromatografía en capa fina (TLC) y cromatografía gaseosa de alta resolución.

CULTIVO LARVARIO. Utilización de la técnica de MESOCOSMOS.

Con puestas de 2005 se utilizó la técnica de mesocosmos. Esta técnica reproduce las condiciones naturales del medio, minimizando el estrés mecánico y el porcentaje de malformaciones, mejora la productividad específica del sistema y disminuye la agresividad y la probabilidad de procesos infecciosos durante las etapas iniciales de desarrollo y crecimiento de larvas y alevines de peces en cultivo. Para valorar el desarrollo del cultivo larvario mediante la

técnica de mesocosmos, además de diferentes parámetros biométricos se abordó el estudio histológico de la organogénesis. Paralelamente, mediante la técnica de doble tinción de hueso y cartílago, se evaluó el estado de osificación del esqueleto.

Los huevos de dentón provinieron de una puesta de finales de mayo (IRTA). Un total de 40.000 huevos se incubaron en un tanque cilíndrico de 3.000 litros de color azul oscuro con aireación suave.

Hasta los 40 días después de la eclosión (dph), el cultivo larvario se realizó en base a un mesocosmos intensivo con agua pseudoverde. Para la preparación de este medio, el agua procedente del mar fue filtrada con filtros de 10 micras para permitir el desarrollo de organismos naturales e impedir la entrada de posibles depredadores. Además se añadió fitoplancton (*Nannocloropsis gaditana* y *Tetraselmis suecica*), cultivado a baja densidad para que la cadena trófica fuera más estable. Durante todo el proceso, la salinidad fue del 37‰; mientras que la temperatura fue aumentando progresivamente a partir de 20 °C. Durante los 12 primeros días de cultivo, el fotoperiodo siguió las variaciones propias de la época del año. Entre los 12 y 20 dph, se pasó a un fotoperiodo de luz continua; Pasado este tiempo se restableció el fotoperiodo natural. La concentración de oxígeno disuelto en el agua se mantuvo siempre por encima del 80%, el pH alrededor de 8 y la concentración de amonio osciló entre 0.2 y 1 ppm. La renovación del agua fue del 0% al principio de la experiencia, incrementándose progresivamente hasta el 40% al final de la misma.

La secuencia de alimentación que se siguió es la descrita en experimentos anteriores. Durante los 16 primeros días, las larvas en cultivo recibieron como alimento vivo (dos veces al día) rotíferos de pequeño tamaño (130 µm) (*Brachiorus rotundiformis*), previamente enriquecidos con la microalga *Schizochytrium* (ALGAMAC 3050, Bio-Marine Aquafaune). La concentración de rotíferos se incrementó gradualmente de 1 rotífero/ml a 20 rotíferos/ml, tras lo cual esta concentración fue disminuyéndose gradualmente. La *Artemia* se enriqueció con una emulsión rica en ácidos grasos esenciales M-70 (ARCHIVEL TECHNOLOGIES S.L.), ofrecida dos veces al día a una concentración de 0.25-3 *Artemias* /ml (15-40 dph), tras lo cual esta concentración también se fue disminuyendo progresivamente. A lo largo del periodo de alimentación con *Artemia*, se administró pienso microparticulado enriquecido con atrayentes (Optima 0 y 1 Gama Solea, PROAQUA NUTRITION), al objeto de cubrir mejor los requerimientos nutricionales de las larvas en las etapas tempranas de su desarrollo.

Muestras de larvas de 3, 16 y 28 dph fueron utilizadas en el análisis histológico. Las larvas, una vez fijadas en formol neutro tamponado al 10%, fueron embebidas en resina de polímero 2-hidroxietilmetacrilato y teñidas con azul de toluidina o hematoxilina-eosina en cortes de 1-3 µm. Larvas de edades de 28,36 y 49 dph fueron utilizadas para realizar la doble tinción de cartílago y hueso. Con esta técnica se digieren los tejidos mostrando el grado de osificación de los elementos esqueléticos, de forma que el color rojo de Alizarina tiñe huesos osificados y tejidos mineralizados, mientras que el azul de Alcian tiñe el tejido cartilaginoso.

Para el análisis de los datos de crecimiento larvario, se tomaron muestras de 5, 10 y 20 individuos a lo largo del periodo de estudio. Los muestreos se realizaron durante el periodo de alimentación con rotíferos (3, 8 y 12 dph) y durante el periodo de co-alimentación con *Artemia* y pienso (16,18,19, 24, 28 y

36 dph). Tras finalizar el destete, se tomaron muestras a diferentes intervalos (49, 64 y 83 dph). Todas las larvas-alevines fueron anestesiadas con aceite de clavo, siendo fijadas en formol neutro tamponado para su posterior análisis. Durante esta etapa los parámetros de crecimiento se determinaron con una lupa binocular provista de una escala micrométrica. Los parámetros evaluados fueron el peso corporal (BW), la longitud total (TL), la longitud estándar (SL), el diámetro del ojo (ED) y la longitud del paquete digestivo (DL). Además, se siguió la evolución del desarrollo de la vejiga natatoria, del hígado y la aleta caudal, así como el llenado del estómago y el consumo de presas vivas.

ENGORDE

Una vez finalizada la fase de cría larvaria, los alevines con un peso inicial de 2,7 gramos fueron trasladados a un nuevo tanque de 3000 litros (0.6 kg/m³), siendo la concentración de oxígeno disuelto superior al 80% de saturación. La temperatura y el fotoperiodo siguieron los cambios naturales en nuestra latitud (40° 5'N, 0° 10'E). El alimento, pienso extruido con un 21% de materia grasa (MISTRAL 21, PROAQUA NUTRITION), fue suministrado dos veces al día mediante comederos automáticos. Cada 10-20 días se hicieron muestreos de la población para calcular la tasa específica de crecimiento (SGR). Paralelamente utilizando puestas de dentón y doradas del 2004, se siguió de forma comparativa el crecimiento de estas dos especies a lo largo de todo un ciclo de cultivo (septiembre 2004-septiembre 2005). Al final del engorde (septiembre 2005), juveniles de dorada y dentón fueron sacrificados para la extracción de sangre y tejidos (análisis de la composición corporal y expresión genética). El resultado de estos análisis se presenta de forma parcial en este informe final

RESULTADOS

La experiencia de cultivo del dentón común (*Dentex dentex*) se prolongó hasta el decimosexto día de edad de los individuos, momento en el cual la mortalidad en los tanques fue máxima.

Los datos obtenidos en las tres puestas (A, B y C; Tablas 5 a 10) difieren en cuanto número final de supervivientes. Así, la supervivencia a temperatura cálida 20°C fue de 23, 30 y aproximadamente 500 individuos en las respectivas puestas (A, B, C). Por otro lado, en los tanques a 16 ° C, en la primera puesta (A) no se obtuvo ningún superviviente en el decimocuarto día, en la segunda puesta únicamente 2 individuos y en la tercera puesta 6 larvas.

En el cultivo de la primera puesta (ver tablas 5 y 6), tanto en temperatura cálida como fría, se ofrecieron rotíferos el 4º día con 76,8 y 62,3 grados de edad. Es entonces cuando se observa una muerte masiva en el tanque a temperatura cálida, mientras que no es hasta el 6º día, con 94,9 grados de edad cuando se observa este fenómeno a temperatura fría.

Dada la intención de adelantar la secuencia de alimentación respecto a otros autores, en esta puesta se tanteó en el 8º día la posibilidad de ingesta de

nauplios de *Artemia* resultando fallido en ambas temperaturas. No es hasta que se observa una diferenciación en las aletas y la vejiga natatoria (259,5 grados de edad a 20° C) cuando se disminuye el consumo de rotíferos y comienza el de nauplios de *Artemia*.

En el cultivo de la segunda puesta (ver tablas 7 y 8) se suministraron rotíferos el tercer día de edad, en ambas temperaturas, adelantándolo respecto a la puesta anterior con la intención de evitar la muerte masiva observada. Este fenómeno se detectó en esta puesta el sexto día de edad, con 121,8 y 114 grados de edad respectivamente. Los nauplios de *Artemia* se proveyeron una vez observadas las aletas y vejiga natatoria, a los 13 y 15 días de edad en el tanque cultivado a temperatura cálida y temperatura baja respectivamente. La supervivencia concernientes a ambas temperaturas fue de 7 individuos y 2 individuos.

Por último, en las larvas obtenidas de la tercera puesta (ver tablas 9 y 10) se proporcionaron rotíferos desde el primer día, puesto que las larvas aparecían con melanóforos estrellados. Los nauplios de *Artemia* se incorporaron en el octavo día para las larvas a temperatura cálida y en el noveno día en las de baja temperatura. La muerte masiva aconteció el séptimo día. Además, se

suministró en ambas pienso microparticulado Optima 00 (ProAqua Nutrición S.A.) en combinación con las presas vivas a partir del séptimo día. En el cultivo a 16° C hubo un goteo significativo y continuo de mortalidad hasta el fin de la experiencia, obteniendo un número final de 6 individuos. En el cultivo a temperatura ambiente el goteo fue más leve llegando a alcanzar la máxima producción de toda la experiencia, aproximadamente 500 individuos.

El valor nutritivo de las presas vivas en cuanto a su contenido en ácidos grasos tanto de los rotíferos en las condiciones controladas, como de las presas vivas remantes en uno de los tanques a 20° C, se detallan en la tabla 4.

Discusión

Los resultados de supervivencia del cultivo larvario de dentón común a temperatura de 16° C (mortalidad \approx 100%), indican la escasa viabilidad de esta propuesta en las condiciones de la presente experiencia. Esto puede deberse a que ésta temperatura se encuentra por debajo del límite óptimo de cultivo para la especie. Aunque, la incubación pueda realizarse a 16° C (Saka, *et al*; 2004), no existe ninguna experiencia previa entre toda la bibliografía que realice cultivo larvario con temperaturas constantes inferiores a 17° C. Esto mismo ocurre en otras especies, en las que es más crítica la fase larvaria que el periodo de eclosión (Polo *et al*, 1991). La mayor supervivencia conseguida a temperatura ambiente es indicativa de la potencialidad de esta opción (Abellán *et al*, 1997; Arizcun *et al*, 2002 y 2003), datos que concuerdan con el desarrollo larvario de la dorada teniendo en cuenta que el rango de temperatura de cultivo es más amplio (Tandler *et al*, 1989; Polo *et al*, 1991)

Dada la variación de las condiciones del cultivo en los diversos casos no puede asegurarse una causa concreta de mortalidad, como ocurre generalmente en el cultivo de cualquier especie. Entre las posibles causas encontramos que, las

densidades de huevos (333-667 huevos /L) fueron superiores a las sugeridas por otros autores (Riera *et al*, 1993; Abellán *et al*, 2000b; Koumoundouros *et al*, 2004). El color y forma de los tanques de los dos tratamientos también difiere, pudiendo deberse esta mortalidad al denominado efecto tanque (Crespo *et al*, 2001; García & Cerezo, 2003). La luminosidad en ambas naves fue diferente durante el transcurso de la experiencia, factor que podría afectar al inflado de la vejiga natatoria y por tanto a la supervivencia final (Chapman *et al*, 1988; Abellán *et al*, 2000 a y b; Koumoundouros *et al*, 2000 a; Crespo *et al*, 2001; Rueda & Martínez, 2001;). Por otro lado, la gran sensibilidad al estrés mecánico de esta especie (Koumoundouros *et al*, 1999; Mourente *et al*, 1999) puede apuntar a que las técnicas de manipulación no fueron las apropiadas.

La mortalidad del dentón en la fase de alimentación con rotífero ha podido incrementarse o retrasarse pese a utilizar densidades (15-20 individuos /ml) recomendadas en la bibliografía debido al shock térmico que sufren éstos al pasar a ser cultivados de 25 ° C a 16° C, enmascarando su consumo real. Este problema no es tan acentuado en la fase de alimentación con *Artemia* al ser éste un animal euritérmico. Las altas mortalidades durante el sexto día y sucesivo goteo de muertes han sido también observadas por otros autores (Rueda & Martínez, 2001), pudiendo deberse a una dieta inadecuada y al aumento del riesgo de infección por patógenos (Company *et al*, 1999).

En el cultivo a temperatura cálida puede distinguirse una de las puestas con una supervivencia claramente superior a las demás. Las condiciones entre las puestas difirieron en cuanto a, temperatura media (20, 21.1 y 22.7° C), densidad de huevos por litro (333 ,500 ,416), inicio de las fases de alimentación con rotíferos (4, 3 y 1 día) y nauplios de *Artemia* (13, 13 y 8 día).

Un factor de éxito puede ser el adelanto en la secuencia de alimentación, ya que puede mejorar la incorporación de nutrientes en cuanto a calidad y cantidad mejorando la carencia de ácidos grasos esenciales necesarios para desarrollar estructuras digestivas (Tulli & Tibaldi, 1997; Crespo *et al*, 2001; Rueda & Martínez, 2001) o neuronales (Watanabe, 1993; Mourente *et al*, 1999). Koumoundouros *et al* (2004) adelantaron la secuencia de alimentación respecto de la establecida en otros trabajos, reportando una supervivencia de 21,7%, valor alto dado que la supervivencia de esta especie (*Dentex dentex*) durante los estadios larvarios¹ es bastante baja (Tulli & Tibaldi, 1997; Mourente *et al*, 1999; Abellán *et al*, 2000; Rueda & Martínez, 2001; Koumoundouros *et al*, 2004;).

Hay que puntualizar que en nuestro caso, se trabajó con puestas tardías en un año con oscilaciones y desfase térmico. Esto es causa reconocida de puestas variables, tempranas y escasas (Loir *et al*, 2001).

En cuanto al nivel de ácidos grasos esenciales (tabla 4) ofrecidos a través de rotíferos tanto en los distintos enriquecimientos como en los rotíferos remanentes, existe una gran variabilidad entre muestras, habiendo sido citado este hecho previamente (Navarro *et al*, 1999).

¹ Pastor *et al*, 1997, Estadio 1 o fase lecitotrófica (0 a 3 días); Estadio 2 o comienzo de la fase exógena (de 4 a 9 días); Estadio 3 o desarrollo de espinas operculares y vejiga natatoria (de 10 a 15 días)

Los resultados de los niveles de ácidos grasos obtenidos en el experimento de enriquecimiento de rotíferos con Fitoplancton, Rotimac y Algamac 3050 se encuentran por debajo de las cifras ofrecidas por el fabricante. Pero los datos de rotíferos remanentes apuntan a un enriquecimiento en ácidos grasos mayor del detectado en el experimento. Además, se obtiene mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en el Rotimac que en el Algamac, cuando supuestamente éste último debería poseer más poliisaturados, aunque, según Barclay & Zeller (1996), **utilizando un enriquecedor de menor calidad** también basado en *Schizochytrium sp.* (Algamac 2000) se pueden conseguir niveles aceptables de ácidos grasos esenciales.

Los datos de rotíferos y nauplios de *Artemia* remanentes en los tanques indican gran variabilidad de enriquecimiento de presas vivas a lo largo del proceso de cultivo insinuando un irregular aporte de ácidos grasos, lo que ha podido influir en las altas tasas de mortalidad, ya que esta especie posee una intensa organogénesis y crecimiento acelerado (Crespo *et al.*, 2004; Santamaría *et al.*, 2004). El alto porcentaje de enriquecimiento en los remanentes del cultivo en masa indica que se ha podido alcanzar el porcentaje de 3,97% peso seco de n-3 HHUFA requerido por *Dentex dentex* (Mourete *et al.*, 1999b).

MESOCOSMOS

Crecimiento y supervivencia.

El diámetro medio de los huevos fue de $968 \pm 28 \mu\text{m}$ y el porcentaje de eclosión a las 48 horas de incubación se estimó en un 94,7%. La longitud total (TL) de las larvas a tiempo 0 fue de $2360 \pm 81 \mu\text{m}$, siguiendo un incremento exponencial hasta los 64 dph ($53263 \pm 4689 \mu\text{m}$). La longitud estándar (SL), tomada a partir del día 28 dph, también aumentó exponencialmente de $8197 \pm 995 \mu\text{m}$ a $47750 \pm 5681 \mu\text{m}$. El diámetro del ojo (ED) y longitud del digestivo (DL) se midieron hasta el día 36, registrándose valores de $1959 \pm 167 \mu\text{m}$ y $4955 \pm 1017 \mu\text{m}$, respectivamente.

La mortalidad durante el cultivo larvario comenzó a cuantificarse a los 23 dph, ya que hasta entonces el tamaño de las larvas no permitió diferenciar los cadáveres de los restos de materia orgánica sifonada desde el fondo. A los 23 dph se contabilizaron 127 cadáveres, pero posteriormente la tasa de mortalidad fue reduciéndose hasta registrarse solamente muertes ocasionales. La tasa de supervivencia al final del desarrollo larvario (64 dph) fue inferior al 3%.

A los 28 dph, el peso medio de las larvas en cultivo fue de $40,6 \pm 12,6 \text{ mg}$, alcanzándose los $5,5 \pm 1,48 \text{ g}$ a los 83 dph. Durante este periodo las tasas de crecimiento disminuyeron progresivamente del 15,3% al 3,7%, alcanzándose los 3g de peso medio a los 2 meses de cultivo y los 62 g a los 5 mese.

Tras este periodo de rápido crecimiento, que llega a doblar o triplicar la biomasa de alevines y juveniles de dorada de la misma edad, se produce una brusca parada del crecimiento durante el periodo invernal que es mas prolongada que en la dorada. De modo que tras el siguiente periodo estival, el peso de los dentones y doradas en cultivo llega prácticamente a igualarse. Durante esta última fase del engorde del dentón, sólo se registró mortalidad por

goteo asociada a patógenos considerados inicialmente oportunistas-*Vibrio harveyi*, *Vibrio splendidus*-. Estos aislamientos bacterianos mostraron una marcada estacionalidad, al verse favorecido *V. Harveyi* con las temperaturas estivales y *V. Splendidus* con la disminución otoñal de la temperatura.

Análisis histológico (desarrollo larvario)

Las larvas de 3 dph presentaron un aspecto normal con el saco vitelino reabsorbido en sus dos terceras partes y una apariencia granular fuertemente acidófila. El tejido cartilaginoso de las estructuras bucales y arcos pseudobranquiales estuvo perfectamente diferenciado. Se apreció una vejiga natatoria y un páncreas incipiente, así como los conductos pronefríticos del riñón anterior.

A lo 16 dph, los principales órganos internos estuvieron totalmente desarrollados. El intestino se diferenció entre anterior, medio y posterior pudiéndose observar células de Goblet. A su vez, el riñón también pudo diferenciarse entre riñón anterior, con tejido hematopoyético, y riñón posterior. Se observaron larvas con un desarrollo irregular, en las que aparece un páncreas exocrino muy voluminoso, vacuolización lipídica del intestino medio y cálculos renales en el riñón posterior.

El análisis del desarrollo del esqueleto y el patrón de osificación con la técnica de tinción de hueso y cartilago de Dingerkus y Uhler (1977) se centró en la columna vertebral y en las aletas dorsales y anales (tabla 11). Los tres grupos de edad mostraron distinta incidencia, en cuanto a las deformaciones, agravándose conforme el esqueleto completa su osificación. Así, en las larvas analizadas a los 28 dph, el porcentaje de malformaciones fue del 40%. Se encontraron dos grados de osificación: uno caracterizado por un estado avanzado en el que los arcos branquiales, las mandíbulas y gran parte de la columna vertebral aparecen osificados y otro segundo grado en el que los peces no muestran indicios de calcificación. Las deformaciones detectables en este momento fueron el desplazamiento externo del hueso *glossohyal* del complejo branquial, deformaciones de los primeros radios distales de los arcos neural y haemal, ausencia de la vértebra 21 de la columna vertebral y una calcificación posterior y caudal deficiente.

A los 36 dph la totalidad de las larvas presentaron un grado de calcificación avanzado. El porcentaje de malformaciones en los individuos analizados fue del 90%. Las deformaciones que se encontraron fueron el desplazamiento del hueso *glossohyal* del complejo branquial, el maxilar superior se mostró reducido respecto al inferior, torsión de las vértebras, ausencia de la vértebra 21 y la consecuente reestructuración del espacio en los radios distales de los arcos neurales y haemales. Además se encontraron larvas con un patrón invertido de osificación, de forma que la columna vertebral y aletas se osificaron antes que el cráneo. En general la osificación fue irregular y a los 22mm de longitud total media, todavía no apareció calcificado el complejo caudal. Este hecho implica que la osificación se mostró retardada respecto a los trabajos de Koumoundouros y cols (1999, 2000 y 2001) que describe la práctica osificación del esqueleto a los 20 mm de longitud total.

A los 49 dph, más del 80% del total de los individuos analizados presentaron diferentes grados de malformación: incidencia de lordosis entre la décima y undécima vértebra, constricción de las vértebras anteriores, y constricción de los radios distales, dorsales y anales fueron las principales causas de malformación. Además, se encontraron las deformaciones descritas previamente, como son el desplazamiento externo del hueso *glossohyal* del complejo branquial y la falta de correspondencia mandibular.

Parámetros hormonales, metabólicos e inmunológicos (dentón vs dorada)

Como se muestra en la tabla 12, al final del periodo de engorde (septiembre 2005), no se observaron diferencias significativas en el peso corporal, longitud estándar y factor de condición de juveniles de dorada y dentón. Los dentones mostraron un menor contenido de grasa hepática, acompañada de una disminución de los niveles circulantes de colesterol y triglicéridos. Por el contrario la disposición grasa a nivel visceral tendió a ser más alta en el dentón que en la dorada, lo que pone de manifiesto una diferente regulación del metabolismo lipídico de estas dos especies, tal como se ha puesto de manifiesto con anterioridad por nosotros mismos (Company y col. 1999) en alevines juveniles con un peso inferior a los 40 g. En el caso que nos ocupa, estas diferencias interespecíficas estarían propiciadas por una menor ingesta de los dentones durante gran parte de la fase final de engorde, lo que primaría una disminución de la lipogénesis hepática.

La causa última de la reducción de ingesta de los dentones (última fase de engorde) es difícil de establecer, aunque podría atribuirse al menos en parte a un estado de estrés crónico. Ello está en consonancia con el grado de nerviosismo y excitación que manifiestan los animales ante cualquier manipulación y ruido en el entorno cercano. En esta misma línea, cabe reseñar que los dentones muestreados presentan niveles altos de glucosa y lactato (respuesta primaria al estrés); mientras que los niveles circulares de GH e IGF-I se ven disminuidos (respuesta secundaria).

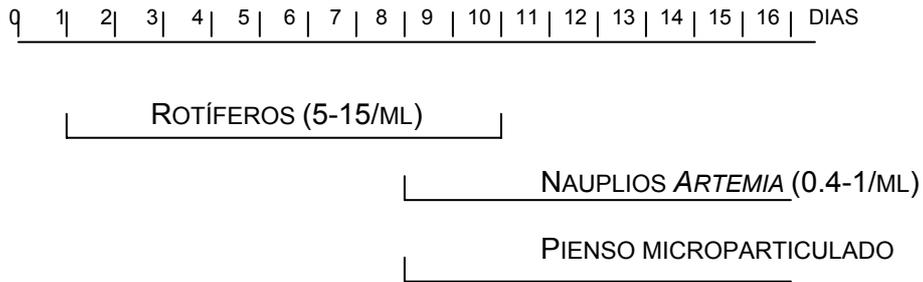
El estrés del dentón en cultivo puede acabar generando daño oxidativo a nivel tisular. Los datos obtenidos en este contexto son todavía escasos, aunque cabe reseñar una alta actividad mieloperoxidasa circulante en el dentón. Dada que esta es una medida de actividad oxidante de carácter basal, ello supone un riesgo real de daño oxidativo para el hospedador. Ante esta circunstancia, no es de extrañar que los dentones hayan desarrollado mecanismos inhibitorios encaminados a reducir la actividad de la NADPH oxidasa (estallido respiratorio) en células fagocíticas activadas con PMA, dado el riesgo que supone por sí mismo un alto contenido en hemoglobina circulante.

CONCLUSIONES

El cultivo larvario de dentón común (*Dentex dentex*) a 16° C no es viable en las condiciones especificadas.

La secuencia de alimentación de las larvas de dentón común (*Dentex dentex*)

que se sugiere es de rotífero *Brachionus rotundiformis* desde el primer día hasta el décimo, combinando *Brachionus plicatilis* con nauplios AF de *Artemia* desde el octavo día. Nauplios AF y pienso microparticulado a partir del undécimo día hasta el final de la experiencia.



El adelantamiento de la secuencia de alimentación puede ser un factor de éxito del cultivo.

Para el cultivo del dentón es necesario manejar técnicas de alimentación que no produzcan estrés mecánico en los peces.

Las muertes masivas observadas siguen sin tener una explicación clara, pero el déficit en ácidos grasos esenciales, llegada al punto de no retorno por inanición o el correcto inflado de la vejiga natatoria parecen las propuestas mas claras.

La calidad de la puesta es fundamental para asegurar mayores supervivencias. Dada la gran variabilidad encontrada en todo el proceso de cultivo es necesario fijar nuevos parámetros que evalúen la condición nutricional de los animales.

Anexo I

Tablas

Tabla 1. Composición en porcentaje de peso seco de las especies de microalgas utilizadas.

ESPECIE	PROTEINAS	CARBOHIDRATOS	LÍPIDOS	AUTOR
<i>Nannocloropsis oculata</i>	35	7.8	18	Brown, 1991; Brown & Miller, 1992;
<i>Scenedesmus obliquus</i>			11.17	Choi <i>et al.</i> , 1987
<i>Tetraselmis suecica</i>	31	12	10	Brown, 1991; Brown & Miller, 1992.

Tabla 2. Estadillo de datos tomados durante el cultivo de rotíferos (*Brachionus rotundiformis* & *Brachionus plicatilis*).

ROTIFEROS

CONDICIONES DEL TANQUE								HUEVOS			
Tipo	Edad	Volumen	Tª	pH	DO2	Salinidad	Rotíferos/ ml	1	2 o más	Condición	Características

Tabla 3. Estadillo de datos tomados durante el cultivo larvario de dentón común (*Dentex dentex*).

Especie											
Puesta		Fecha eclosión									
Fecha	Edad (dph)	Edad (° C)	DO2	pH	Estado desarrollo	Fitoplancton	Rotíferos	Copépodos	Artemia AF	Artemia EG	Comentarios

Tabla 4. Valores de enriquecimiento de presas vivas

ACIDOS GRASOS mg/g	ENRIQUECIMIENTO (media; desviación estándar)							REMANENTES (diferentes días)										
	Rotíferos						Artemia											
	Fitoplancton		Rotimac		Algamac		DC SuperSelco	<i>Rotíferos</i>				<i>Rotíferos y Artemia</i>			<i>Artemia</i>			
								Dia1	Dia2	Dia3	C.V.	Dia1	Dia2	C.V.	Dia1	Dia2	Dia3	C.V.
16:0	6.40	1.53	19.18	5.20	20.44	5.32	12.17	14.10	11.38	10.23	0.17	13.13	7.22	0.41	18.68	11.33	9.07	0.39
16:1n-7	2.22	0.51	6.48	0.32	2.50	0.41	4.85	3.28	3.57	4.11	0.12	10.34	2.69	0.83	14.68	4.62	5.32	0.68
18:0	1.65	0.63	4.34	1.31	1.70	0.45	5.88	1.86	1.93	2.26	0.10	4.05	1.50	0.65	9.01	2.68	3.88	0.65
18:1n-9	2.42	0.47	16.30	5.38	1.13	0.43	30.75	3.03	4.48	2.68	0.28	7.93	2.20	0.80	29.88	9.80	10.42	0.68
18:1n-7	0	0	4.69	0.28	3.89	0.14	10.30	1.62	1.76	1.71	0.04	6.79	1.87	0.80	14.99	4.57	7.10	0.61
18:2n-6	2.71	1.55	8.40	0.88	1.07	0.29	21.02	1.89	2.84	2.22	0.21	3.21	1.18	0.66	8.88	3.89	2.98	0.61
18:3n-3	1.44	0.73	0.77	0.12	0.48	0.15	1.90	0.88	1.00	0.89	0.07	3.53	0.93	0.83	6.00	1.21	1.83	0.86
20:4n-6	0.69	0.31	0.75	0.65	1.05	0.09	0.24	1.62	1.00	1.32	0.24	2.30	0.88	0.63	3.97	0.85	1.37	0.81
20:5n-3	1.75	0.74	1.85	0.10	1.23	0.12	0.26	5.17	4.65	6.06	0.13	12.37	2.64	0.92	36.13	6.25	7.20	1.03
22:6n-3	0.17	0.14	4.11	1.04	1.81	0.13	6.03	8.53	4.71	2.98	0.53	0.92	1.40	0.29	5.67	5.38	2.16	0.44
DHA/EPA	0.09	0.03	2.21	0.45	1.47	0.09	23.18	1.65	1.01	0.49	0.55	0.07	0.53	2.09	0.16	8.86	0.30	0.85
Saturados	9.40	2.38	26.57	6.90	27.63	6.92	20.77	18.98	15.92	14.76	0.13	20.08	10.51	0.44	31.14	16.56	14.83	0.46
Monoenos	6.17	1.78	29.96	5.43	8.58	1.08	49.27	11.76	16.47	12.58	0.18	26.68	7.64	0.78	63.05	25.53	26.69	0.65
Poliinsaturados	7.86	4.09	19.50	2.02	7.29	0.58	48.32	22.68	16.74	16.57	0.19	25.34	8.45	0.71	63.25	18.92	15.96	0.85
HUFA n-6	0.90	0.52	3.46	0.26	1.94	0.06	2.06	8.78	8.54	6.81	0.13	2.87	1.59	0.41	3.97	1.11	1.37	0.85
HUFA n-3	2.81	1.61	6.86	1.03	3.81	0.32	22.59	25.90	18.95	16.45	0.24	15.50	4.76	0.75	43.58	12.0	9.36	0.92

Tabla 5. Edad, en días después de la eclosión (dph), edad en grados día (dd), estado de desarrollo (ED), presas vivas consumidas por *Dentex dentex* y condiciones de cultivo a 20° C, puesta A.

dph		Estado de desarrollo	Rotíferos consumidos	<i>Artemia</i> Añadida
1	19.2		0	
2	38.4	1/3 Saco vitelino ²	0	
3	57.6	Pigmentación ojo	0	
4	76.8	Boca abierta Muerte masiva	15.75	
5	96.1	Ojo azul	15.25	
6	116.4	Ojo Azul Fotografía	9.5	
7	136.9	ojo azul	19.5	
8	157.2	Gota lipídica No comen <i>Artemia</i>	9.7	
9	177.1	Intestino OK	9.55	
10	197.7	Intestino OK	11.75	
11	218.3	Intestino OK	9.25	
12	238.9	Diferenciación aletas	8	
13	259.5	Vejiga formada	1.5	0.2
14	279.3	Vejiga formada	3.75	0.2
15	299.6	Vejiga formada		0.5
16	319.6	Vejiga formada 23 ejemplares		0.5

Media temperatura = 20 ° C

Media rotífero añadido = 9.21 rotíferos * ml⁻¹

² Según Jug-Dujakovic et al, 1995.

Media DO = 89.27%

Media pH = 8.12

Fitoplancton = 10% volumen total tanque

Densidad inicial de huevos = 333 huevos* L⁻¹

Tabla 6. Edad, en días después de la eclosión (dph), edad en grados día (dd), estado de desarrollo (ED), presas vivas consumidas por *Dentex dentex* y condiciones de cultivo a 16° C, puesta A.

Edad (dph)	Grados día	Estado de desarrollo	Rotífero Añadido	<i>Artemia</i> Añadida
1	15.5	fotografía		
2	31.2	2/3 saco vitelino		
3	46.8	1/3 saco vitelino		
4	62.3	pigmentación ojo	20	
5	77.9	boca visiblemente desarrollada	15	
6	94.9	Muerte masiva foto ojo azul	15	
7	110.8	mas bajas	15	0.5
8	127.4	movimiento lento	15	No comen <i>Artemia</i>
9	144	regular muy pocas delgadas	20	
10	161.1	regular - mal	30	
11	177.8		30	
12	193.7	1 larva	15	
13	209.7	1 larva	15	
14	228.4	Tanque eliminado		

Media temperatura = 16.3 ° C

Media rotífero añadido = 19 rotíferos * ml⁻¹

Media DO = 89.41%
 Media pH = 7.70

Fitoplancton = 10% volumen total tanque
 Densidad inicial de huevos = huevos* 444 L⁻¹

Tabla 7. Edad, en días después de la eclosión (dph), edad en grados día (dd), estado de desarrollo (ED), presas vivas consumidas por *Dentex dentex* y condiciones de cultivo a 20° C, puesta B.

Edad (dph)	Edad ° C	Estado de desarrollo	Rotíferos consumidos	<i>Artemia</i> Añadida
1	20.6	2/3 Saco vitelino		
2	41.2	1/3 Saco vitelino		
3	61.8	Ojo pigmentado	15.75	
4	81.4	Boca abierta	15.25	
5	101.6	Ojo azul	9.5	
6	121.8	Muerte masiva	19.5	
7	142.5		9.7	
8	163.3		9.55	
9	184.5	Fotografía	11.75	
10	207.1		9.25	
11	229.7		8	
12	252	Aletas	6.75	
13	273.3	Vejiga natatoria	7.5	0.2
14	295.3			0.2
15	316.7			0.2
16	337.7	30 larvas		0.2

Media temperatura = 21.1 ° C
 Media rotífero añadido = 12.27 rotíferos * ml⁻¹
 Media DO = 91.51%
 Media pH = 8.16

Fitoplancton = 10% volumen total tanque

Densidad inicial de huevos = 500 huevos* L⁻¹

Tabla 8. Edad, en días después de la eclosión (dph), edad en grados día (dd), estado de desarrollo (ED), presas vivas consumidas por *Dentex dentex* y condiciones de cultivo a 16° C, puesta B.

Edad (dph)	Edad ° C	Estado De desarrollo	Rotíferos consumidos	<i>Artemia</i> Añadida
1	33.1	2/3 saco vitelino	0	
2	49.1	1/3 saco vitelino	0	
3	65.2	1/4 saco vitelino	10	
4	81.5	ojo pigmentado algo	19	
5	97.7	ojo azul	30	
6	114	pigmentación negra Muerte masiva	28	
7	129.8		29	
8	146.3	Fotografía	16.5	
9	162.4		15.25	
10	178.9		20.25	
11	195		1.25	
12	211		21.75	
13	227.3		4	
14	243.7		7	
15	261		5.5	0.2
16	278.3	2 larvas	2.5	0.4

Media temperatura = 16.5 ° C

Media rotífero añadido = rotíferos * ml⁻¹

Media DO = 91.05%

Media pH = 8.13

Fitoplancton = 10% volumen total tanque

Densidad inicial de huevos = 667 huevos* L⁻¹

Tabla 9. Edad, en días después de la eclosión (dph), edad en grados día (dd), estado de desarrollo (ED), presas vivas consumidas por *Dentex dentex* y condiciones de cultivo a 20° C, puesta C.

Edad (dph)	Edad ° C	Estado de desarrollo	Rotíferos consumidos	<i>Artemia</i> Añadida
1	20.5		10.75	
2	41		17.5	
3	62.8		15.25	
4	84.6		19.5	
5	107	Optima 00	16.75	
6	129.4		12	
7	151.8	Muerte masiva	11.75	Optima 00
8	174.2		20.5	0.4
9	133.8		0.9	0.6
10	157.3		5.2	0.6
11	180.8	fotografía		0.6
12	267.3			1
13	291			1
14	314.8			1
15	338.4			1
16	362.8	±300 larvas		1

Media temperatura = 22.7 ° C

Media rotífero añadido = 13.51 rotíferos * ml⁻¹

Media DO = 79.5%

Media pH = 7.83

Fitoplancton = 10% volumen total tanque

Densidad inicial de huevos = 416 huevos* L⁻¹

Tabla 10. Edad, en días después de la eclosión (dph), edad en grados día (dd), estado de desarrollo (ED), presas vivas consumidas por *Dentex dentex* y condiciones de cultivo a 16° C, puesta C.

Edad (dph)	Edad ° C	Estado de desarrollo	Rotíferos consumidos	<i>Artemia</i> Añadida
1	34.6	larva pigmentada	4	
2	51.9		18.25	
3	68.9		15.25	
4	85.9		19.5	
5	103.3		11	
6	120.1		6	
7	136.9	Muerte masiva	16.5	Optima 00
8	153.7	Disminución población	18	
9	170.5		7.7	0.2
10	186.9		8	0.2
11	203.3	fotografía	7.5	0.2
12	220.8	Disminución población	17.4	0.2
13	238.3		7.4	0.2
14	255.8		3.7	0.2
15	273.1		7	0.2
16	290.5	6 larvas	0	0.2

Media temperatura = 17.1° C

Media rotífero añadido = rotíferos * ml⁻¹

Media DO = 83.82%

Media pH = 8.12

Fitoplancton = 10% volumen total tanque

Densidad inicial de huevos = 556 huevos* L⁻¹

Tabla 11. Descripción de número teórico de elementos del esqueleto del dentón común según Koumoundouros (2001)

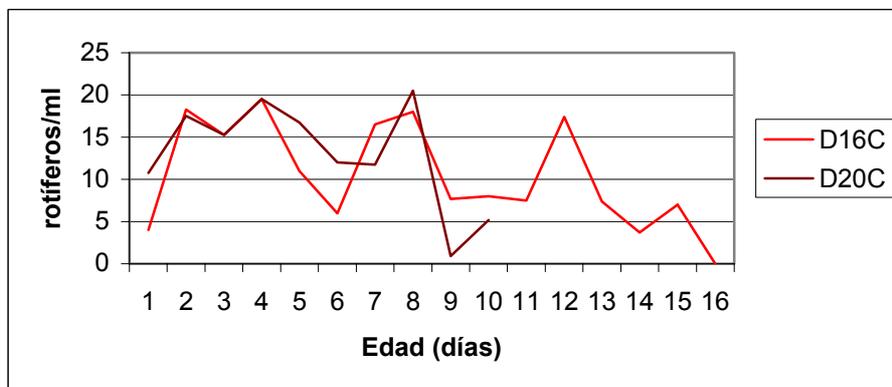
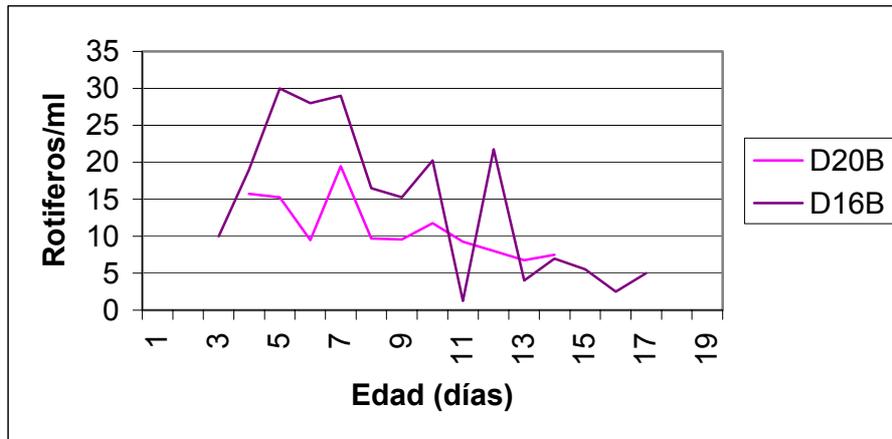
ELEMENTOS ESQUELÉTICOS	NÚMERO TEÓRICO
Nº vértebras neurales y epurales	24 (21+3)
Nº vértebras haemales	11 (7+4)
Nº espinas predorsales + <i>pterygiophore</i> proximal y radio distal	5 (3+2)
Radios dorsales	18 (9+4 dobles +1)
Radios anales	9 (3+3 dobles)
Espinass <i>duras</i> y lepidotrichias dorsales	10-11 ED 9-12 L
Espinass <i>duras</i> y lepidotrichias anales	3 ED 7-9 L

Tabla 12. Datos de la composición corporal y parámetros sanguíneos de la dorada y el dentón común. Cada valor representa la media \pm error estándar de 10-20 peces. Los valores de *P* son el resultado del análisis t-test. FC (Factor de condición = (100 x Peso corporal) / (Longitud estándar)), VSI (Índice viscerosómico = (100 x peso visceral) / peso corporal), MFI (Índice de grasa mesentérica = (100 x grasa mesentérica) / peso corporal, HIS (Índice hepatosómico = (100 x peso hígado) / peso corporal).

	Dorada	Dentón	<i>P</i>
Peso corporal (g)	248.53 \pm 6.91	242.38 \pm 59.04	0.682
Longitud standard (cm)	19.84 \pm 0.19	20.03 \pm 1.47	0.714
FC	3.16 \pm 0.07	2.97 \pm 0.08	0.096
Vísceras (g)	19.66 \pm 0.89	20.44 \pm 1.84	0.706
Grasa mesentérica (g)	4.99 \pm 0.62	7.69 \pm 1.19	0.053
Hígado (g)	4.37 \pm 0.18	4.76 \pm 0.31	0.287
VSI (%) ³	7.98 \pm 0.35	8.12 \pm 0.36	0.777
MFI (%) ⁴	2.04 \pm 0.25	2.89 \pm 0.35	0.055
HIS (%) ⁵	1.77 \pm 0.05	1.95 \pm 0.05	0.032
Lípidos hepáticos (%)	12.4 \pm 1.25	7.07 \pm 1.13	0.005
Lípidos hepáticos (g/100g peso corporal)	0.22 \pm 0.02	0.13 \pm 0.02	0.030
Triglicéridos plasmáticos (mM)	1.51 \pm 0.23	0.97 \pm 0.16	0.072
Colesterol plasmático (mg/dl)	359.2 \pm 5.9	282.1 \pm 15.1	<0.001
Hematocrito (%)	38.5 \pm 1.9	40.6 \pm 0.96	0.344
Hemoglobina (g/dl)	9.56 \pm 0.23	10.8 \pm 0.13	<0.001
Glucemia (mg/dl)	54.9 \pm 1.1	82.5 \pm 9.9	0.006
Lactato en sangre (mg/dl)	15.4 \pm 1.1	19.5 \pm 1.6	0.045
Cortisol plasmático (ng/ml)	10.2 \pm 1.6	12.1 \pm 2.1	0.654
IGF-I plasmática (ng/ml)	65.4 \pm 1.91	29.5 \pm 3.1	<0.0001
GH plasmática (ng/ml)	8.48 \pm 0.86	5.91 \pm 0.76	0.039
Estadillo respiratorio (integral IRLU)	595.50 \pm 151.47	169.00 \pm 92.47	0.027
Mieloperoxidasa plasmática (unidades de absorbancia relativa)	0.203 \pm 0.07	0.427 \pm 0.09	0.034

Figuras

Figura 1. Consumo diario de rotíferos en los distintos tanques de cultivo.
 Tanques cultivados a 20° C son D20 y los cultivados a 16° C son D16.



CONCLUSIONES GENERALES

1 SUBPROYECTO DENTÓN

Reproducción

- **Se ha conseguido un número importante de reproductores (CARM) contribuyendo al abastecimiento y formación de stocks en otras CCAA participantes en este proyecto**
- **La reproducción no tiene problemas obteniéndose puestas espontáneas con facilidad. Para ello es necesario disponer de un número suficiente de ejemplares adaptados a la cautividad**

Cultivo larvario

- **Los resultados obtenidos sobre condiciones y sistemas de cultivo (temperatura, densidad larvaria inicial, intensidad de luz etc) unidos a los procedentes de investigaciones previas nos permiten una mayor aproximación a los parámetros óptimos de cultivo, aumentando las posibilidades de éxito del mismo**
- **Los resultados obtenidos en alimentación (tipos y calidad de presas vivas, densidad, dosis, enriquecimiento etc) permiten contribuir a la definición de la secuencia óptima de alimentación y establecer un protocolo y estrategia de alimentación adecuada**
- **Los resultados en el cultivo larvario son variables y poco repetibles. El porcentaje de ejemplares deformes es elevado y aparecen mortalidades masivas entre los 25 y 35 días de edad**
- **Es necesario investigar en el manejo y nutrición de reproductores para conseguir puestas de calidad que permitan mayores supervivencias y calidad larvaria. Es recomendable continuar investigando en las necesidades nutritivas y ambientales en larvas**

Nutrición, engorde y comportamiento

- **Se han establecido los parámetros de cultivo (consumo de oxígeno, comportamiento respiratorio y patrón de actividad alimentaria)**
- **Se han diseñado dietas y estrategias de alimentación**
- **Se ha establecido el tipo de tanque mas adecuado para el engorde**
- **Estos resultados permiten abordar con mas posibilidades de éxito y mayor rendimiento el engorde de esta especie**

2 SUBPROYECTO HURTA

Reproducción y cultivo larvario

- **Obtención de reproductores y domesticación: adaptación a las condiciones de cautividad**
- **Se ha establecido la calidad mas adecuada del agua para los reproductores de esta especie**
- **Se han conseguido por primera vez puestas en cautividad y realizado los primeros ensayos de cría larvaria y preengorde**
- **Para aumentar las supervivencias larvarias y conseguir mejores resultados en la fase de engorde es necesario desarrollar técnicas específicas para las diferentes fases de cultivo: establecer condiciones de cultivo y determinar necesidades nutritivas**

Estudio de la biología reproductiva de la hurta en Canarias. Se ha establecido:

- **Hermafroditismo proterogínico**
- **Proporción macho/hembra 1:6.13**
- **Periodo de reproducción : septiembre- febrero**
- **Talla de la primera madurez: 400-500 mm**

VALORACIÓN

Andalucía

Todos los objetivos planteados en el subproyecto se han cumplido en los plazos establecidos. Se han realizado las actividades programadas y conseguido los objetivos propuestos. La valoración es positiva y el presupuesto se ha ejecutado al 100%

Baleares

A pesar de las dificultades planteadas durante el desarrollo del presente proyecto por la remodelación y demora de las instalaciones de cría, no prevista en el momento de la aprobación del mismo, se puede considerar que se han alcanzado muchos de los objetivos inicialmente planteados y parte de ellos se encuentran en la fase de publicación de resultados. Con un 75% de ejecución de los objetivos inicialmente planteados, y teniendo en cuenta las dificultades añadidas que se han presentado durante la ejecución del mismo, se puede valorar de manera satisfactoria el grado de ejecución y los resultados alcanzados.

Canarias

Debido a los retrasos en la incorporación de los fondos necesarios no se han realizado todas las actividades previstas inicialmente por esta razón el proyecto llevaba un retraso de mas de año y medio en abril de 2005 (proyecto dentón y proyecto pargo). Se dispone de resultados del proyecto hurta y no se ha recibido ningún dato del proyecto pargo

Cataluña

Se ha completado gran parte de los objetivos iniciales del proyecto. La única desviación obtenida se debió a la pérdida del stock de reproductores inicial y la adquisición, aclimatación y engorde de uno nuevo de origen salvaje, por lo que los objetivos de reproducción no pudieron llevarse a cabo. La valoración es positiva

Murcia

IMIDA. La mayor dificultad que se ha tenido para el desarrollo del presente proyecto ha sido la disponibilidad de alevines para realizar las distintas actividades propuestas. No se han podido obtener ejemplares de criadero ni procedentes de centros de investigación ni de empresas, salvo unos 300 ejemplares que cedió el IEO de Murcia y con los que se realizó un trabajo. No obstante, se capturaron ejemplares del mar con los que se han realizado algunas de las actividades. Por estas razones el calendario inicial así como los objetivos específicos se han tenido que variar. No obstante, el volumen de actividades desarrolladas y los objetivos cubiertos están en consonancia con el presupuesto y con los objetivos planteados. La valoración es positiva.

IEO. Teniendo en cuenta que no se ha dispuesto de los presupuestos correspondientes a 2002 y 2003 y que se han realizado el 70 % de los objetivos planteados inicialmente, la valoración es positiva

Valencia

La realización del proyecto se pospuso al periodo 2004-2005. Las actividades realizadas en 2004 se ajustan a las previstas. El informe recibido en 2006 recoge las actividades programadas para 2005. Se valora satisfactoriamente.

DIFUSIÓN

Este proyecto ha generado (fecha 2005) 13 publicaciones 20 comunicaciones a Congresos Nacionales e Internacionales 1 tesis doctoral y la participación en mesas redondas y seminarios relacionados con las especies objeto de este proyecto