
JACUMAR

**JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS
MARINOS**

PLANES NACIONALES

Informe Global del Proyecto:
**“Cultivo y gestión de oreja de mar
Haliotis tuberculata spp”**

TITULO DEL PROYECTO

Cultivo y gestión de oreja de mar *Haliotis tuberculata* spp.

CAA PARTICIPANTES

Canarias (P₁), Galicia (P₂) y Asturias (P₃)

COMUNIDAD AUTÓNOMA DE CANARIAS (P₁)

ICCM :Instituto Canario de Ciencias Marinas

Responsable: Marisol Izquierdo López

Grupo de Trabajo: Hipólito Fernández-Palacios Barber, Gercende Courtois de Viçose, Amaia Bilbao Villena y M^a del Pino Viera Toledo

COMUNIDAD AUTÓNOMA DE GALICIA (P₂)

CIMA: Centro de Investigaciones Mariñas

IGAFA: Instituto Galego de Formación en Acuicultura

CCMM: Centro do Control do Medio Mariño

Responsable: Alejandro Guerra Díaz

Grupo de Trabajo: Susana Novoa Vazquez, Jaime Montes Pérez, María Varela Manso, Iria Santamaría Búa, Mercedes Fernández Besada (CIMA)
M^a del Carmen Andrés Rivas, Miguel Ángel Lastres Couto (IGAFA).

COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ASTURIAS (P₃)

CEP: Centro de Experimentación Pesquera

Responsable: Carmen Rodríguez Rodríguez

Grupo de Trabajo: José Francisco Carrasco Fidalgo, Jacobo López Ruiz, Daniel González-Nuevo Galán

COORDINACIÓN

Comunidad Autónoma de Canarias: **Marisol Izquierdo López**

OBJETIVOS GENERALES PREVISTOS

- Estudiar el grado de explotación del recurso en cada comunidad
- Evaluar la potencialidad comercial de la explotación de la oreja de mar
- Determinar las posibles patologías (salvajes y semillas)
- Caracterizar el ciclo reproductivo de las distintas poblaciones de *H. tuberculata*
- Evaluar los parámetros óptimos para el acondicionamiento del stock de reproductores
- Validar diversos sistemas de mantenimiento de reproductores (tierra y mar)
- Optimizar las técnicas de producción de semillas
- Realizar un Sistema de Información Geográfica del recurso a nivel nacional

CRONOGRAMA GENERAL

Líneas de Investigación	Tareas	Anualidades		
		1 ^a	2 ^a	3 ^a
I. EVALUACIÓN DEL RECURSO	I.1. Estudio del grado de explotación del recurso en cada comunidad	XXXX	XXXX	XXX
	I.2. Viabilidad comercial de la explotación de la oreja de mar	XX	XXXX	XXX
	I.3. Seguimiento de las posibles patologías en las poblaciones estudiadas	XXXX	XXXX	XXXX
	I.4. Elaboración de un protocolo de cuarentena	XXXX		
II. MEJORA DEL CONTROL DE LA REPRODUCCION DE <i>H. tuberculata spp</i>	II.1. Caracterización del ciclo reproductivo de <i>H. tuberculata spp.</i>	XXXX	XXXX	XXX
	II.2. Adaptación de ejemplares en diversos sistemas de cultivo	XXXX	XXXX	XXXX
	II.3. Evaluación de los parámetros óptimos para el acondicionamiento del stock de reproductores	XX	XXXX	XXX
III. OPTIMIZACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE SEMILLA	III.1 Estudio del desarrollo larvario. Aplicación de técnicas de producción larvaria a escala piloto	XXX	XX	
	III.2 Evaluación de los sustratos óptimos para la producción larvaria	XXXX	XXXX	XXXX
	III.3 Ensayos de producción de postlarvas		XXX	XXXX
IV. DIFUSIÓN DE LA INFORMACIÓN (WEB)	IV.1 Sistema de Información Geográfica	XX	XXXX	XXXX
	IV.2 Base de datos bibliográfica	XX	XXXX	XXXX

LINEAS

Línea I: Evaluación del recurso

TAREA I.1. Estudio del grado de explotación del recurso en cada comunidad (P₁, P₂ y P₃)

I.1. CANARIAS

En Canarias este molusco se ha venido explotando de forma tradicional durante las últimas décadas, lo que ha motivado que la población natural existente sea escasa.

En esta tarea se ha realizado una recopilación bibliográfica de los estudios de campo previos realizados por las diferentes instituciones canarias, abordando la situación del recurso en cada una de las islas del Archipiélago.

Introducción de la especie presente en las Islas Canarias

La sistemática utilizada por la FAO (1995) se describe en la Tabla I.

Tabla I: sistemática del abalone (FAO, 1995)

Phylum	Mollusca Linnaeus, 1758
Clase	Gastropoda Cuvier, 1797
Subclase	Prosobranchia Edwards, 1848
Orden	Archaeogastropoda Thiele, 1929
Superfamilia	Pleurotomarioidea Swainson, 1840
Familia	Haliotidae Rafinesque, 1815
Género	Haliotis Linnaeus, 1758

El Género *Haliotis* es el único relacionado con la Familia Haliotidae. Aunque existen numerosos taxos de Subgéneros, éstos han sido propuestos basados principalmente en características de la concha; *Haliotis tuberculata* Linnaeus 1758 (especie presente en las costas europeas) fue atribuido al Subgénero *Sulculus* Adams & Adams, 1854 (Cox, 1960)

Existen subespecies asociadas a *H. tuberculata* L. aunque durante años ha existido controversia en cuanto a si eran especies diferentes o subespecies, como es el caso de *Haliotis lamellosa* que habita en el Mediterráneo (FAO, 1995) y *Haliotis tuberculata coccinea* Reeve, 1846 que habita en las costas canarias.

En la actualidad *H. lamellosa* y *H. tuberculata* son consideradas la misma especie, encontradas ambas conviviendo en una misma población (Geiger, 1998)

En cuanto a *H. tuberculata coccinea*, en los primeros estudios publicados sobre su inducción a la puesta (Peña, 1985) el nombre científico ilustrado es *H. coccinea canariensis* Nordsieck, 1975, la cual se consideraba una especie endémica macaronésica y diferente a *H. tuberculata* L. Este estado taxonómico también es recogido en varias publicaciones de especies marinas de Canarias (Pérez y Moreno, 1991; Franquet y Brito, 1995) incluso en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas del Real Decreto 151/2001 del 23 de Julio de 2001 (BOC-2001/097).

Sin embargo, nuestro grupo de investigación acepta lo descrito por el taxónomo Geiger, especialista en *Haliotis spp.*, que en el año 2000 publicó que es una subespecie de *H. tuberculata* L, ya que su secuencia de códigos de ADN difiere sólo en la posición de cuatro aminoácidos de una secuencia de 132. De igual forma, en la última publicación donde se revisan los taxones de las especies marinas de Canarias (Moro et al, 2003), *H. tuberculata coccinea* R. es considerada una subespecie de *H. tuberculata* L. y es sinonimia de *H. coccinea canariensis* R.

Descripción morfológica de *H. tuberculata coccinea*

La morfología externa consta de una concha más o menos plana en sentido dorso-ventral (deprimida), ovalada y con forma de oreja (auriculada) (Fig.1). La concha es espiral, siendo más visible la espira por la cara interna de ésta. La cabeza del animal se sitúa hacia la parte anterior y el ápice (apex) de la espira es posterior, y está desplazado hacia el lado derecho (dextrorsa). La última vuelta de la concha es muy amplia y presenta una fila de orificios situados en el borde izquierdo, extendiéndose hasta la parte anterior, donde se encuentra la cabeza. Los orificios anteriores son los más grandes y los posteriores suelen presentarse cerrados. Los orificios facilitan la respiración y la expulsión de residuos (Fallu, 1991).

La superficie externa es áspera (labrada), con estrías de crecimiento visibles y muy marcadas en la zona del labro. La coloración externa es rojizo-castaña, con manchas blanquecinas dispersas. La coloración puede estar enmascarada en parte por organismos epibiontes, siendo más abundantes en las almejas de mayor tamaño. La cara interna de la concha, visible al extraer el cuerpo del animal, es muy lisa y con un estrato nacarado algo iridiscente. Carece de opérculo.

Ocupando toda la superficie ventral del animal se encuentra el pie, muy musculoso y perfectamente adaptado para la fijación al sustrato. La parte dorsal del pie está recubierta por una epidermis especial denominada epipodio. Este tejido no queda cubierto por la concha y es muy duro, presentando gran número de órganos sensoriales y tentáculos epipodales, que utiliza para detectar la presencia de alimento y depredadores.

En la parte anterior del pie se encuentra la cabeza, que es típica de caracol, con dos grandes tentáculos en los labios. La boca se encuentra en la base de la cabeza, bajo los labios, y contiene una potente rádula (órgano raspador) dentada.

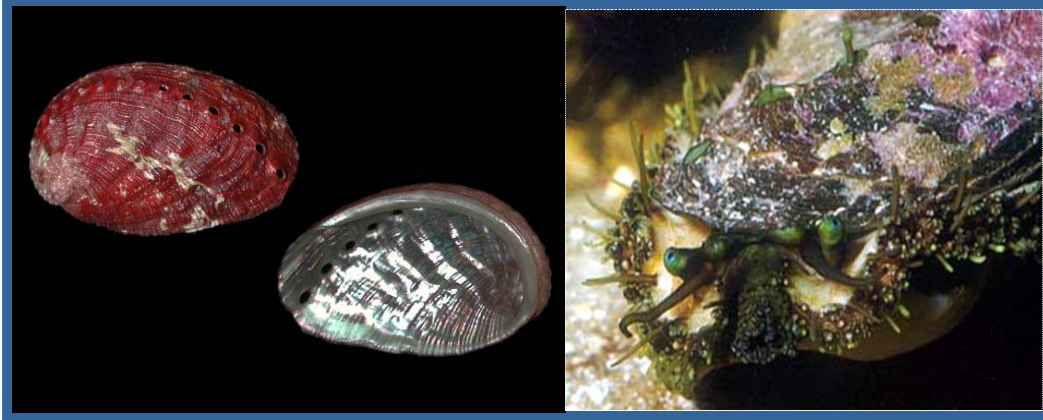


Figura 1 Concha y detalle de la cabeza y el epipodio de *H. tuberculata coccinea*.

Los ejemplares de mayor tamaño llegan a 75mm de longitud máxima y 45mm de ancho. Hay que destacar que las poblaciones de *H. tuberculata coccinea* presentan variaciones en cuanto al tamaño y coloración. Por ejemplo en Sardinia del Norte (Gran Canaria), sólo se encuentran ejemplares pequeños (hasta 3-4 cm) mientras que en Arinaga (Gran Canaria), a 1 metro de profundidad, en zonas muy ricas en algas, son frecuentes ejemplares del doble de tamaño. La coloración del pie varía posiblemente debido a la alimentación ingerida, ejemplares capturados en Sardinia del Norte presentan un pie gris, mientras que en la zona del Castillo del Romeral (Gran Canaria) el pie es verdusco.

Existen infinidad de nombres comunes referentes a *Haliotis tuberculata*, la siguiente lista fue recopilada por Poutiers en 1993:

Ormer, Omar, Venus ear, Ear shell (Inglés); Oreille de mer, Ormeau, Ormier (Francés); Ohrschnecke, Meerohr, Seeohr (Alemán); Lapa Burra, Orelhas (Portugués); Señorina, Oreja de mar, Peneira (Español); Patella Reale (Italiano); Achivada chromasisti, Aftí tis, Afroditi (Griego); Petrovo uho, Uhomorsk (Yugolasvo); Zee-oor (Flamenco); Deniz kulagi (Turco); Saeeya (Eslavo); Ozemyan (Hebreo).

La especie de *Haliotis* presente en Canarias (*H. tuberculata coccinea*) se conoce con el nombre común de almeja canaria, oreja de mar o lapa burra (Franquet y Brito, 1995).

Distribución geográfica

La familia Haliotidae está distribuida en todos los océanos, excluyendo la costa este de Norteamérica, la costa oeste de Sudamérica y las latitudes boreales. Se localizan en las costas del Pacífico Oeste y Noreste, Australia, Japón, África del Sur, y a lo largo de las costas del Atlántico Este y Suroeste.

Batimétricamente se localizan desde la zona de mareas hasta profundidades mayores de 40m, presentándose las máximas densidades entre 3-10 m donde las algas, su alimento natural, crecen abundantemente (FAO, 1990). En Japón, Norteamérica, y África del Sur, las especies de abalón están comúnmente asociadas con poblaciones de algas gigantes (Lindberg, 1992).

En muchos casos la distribución de las especies, alrededor de un centenar del género *Haliotis*, se corresponde a gradientes de temperatura. La mayor diversidad se asocia a regiones tropicales, subtropicales y templado-cálidas, siendo escasas las representantes en costas de aguas frías (Lindberg, 1992).

Solamente alrededor de 10-15 especies tienen interés comercial (Hanh, 1989). Entre ellas cabe destacar *H. discus hannai*, la especie con mayor producción en Asia que se localiza hasta 25 m de profundidad (FAO, 1990). En otros lugares del mundo, las especies comerciales incluyen a *H. rubra* en Australia, *H. iris* en Nueva Zelanda y *H. midae* en Sudáfrica. De las diez especies que se encuentran distribuidas en la Costa Pacífica de América del Norte, tres son comercialmente importantes y cabe destacar, *H. rufescens* (también conocido como el abalone rojo) con una longitud máxima de 30cm (Hanh, 1989). Otra especie de especial interés es *H. asinina* de regiones subtropicales y tropicales, con un tamaño máximo de 10cm. Su relación tamaño del pie respecto a la concha es alto en comparación con otras especies (Apisawetakan et al., 1997).

En Europa, la única especie autóctona comercial es *H. tuberculata tuberculata*. La distribución natural de esta especie es a lo largo de toda la costa nordeste de Francia, desde el Oeste de Normandía hasta el Sur de Bretaña (Belle-Ile), así como alrededor de las Islas del Canal de la Mancha. No se encuentra en las costas Británicas ni Irlandesas (Hahn, 1989) aunque su cultivo se desarrolla de forma comercial con animales introducidos procedentes de otros lugares.

En Canarias al igual que ha ocurrido con la sistemática de *H. tuberculata coccinea*, también ha existido controversia en cuanto a su distribución natural. Pérez y Moreno (1991) consideran que el área de distribución de *H. tuberculata coccinea* está restringida a los archipiélagos macaronésicos de Canarias y Salvajes, mientras que Geiger (2000) publica que su distribución se extiende a Melilla, Málaga, Islas Canarias, Madeira, Islas Salvajes, Cabo Verde y Azores (Fig. 2).

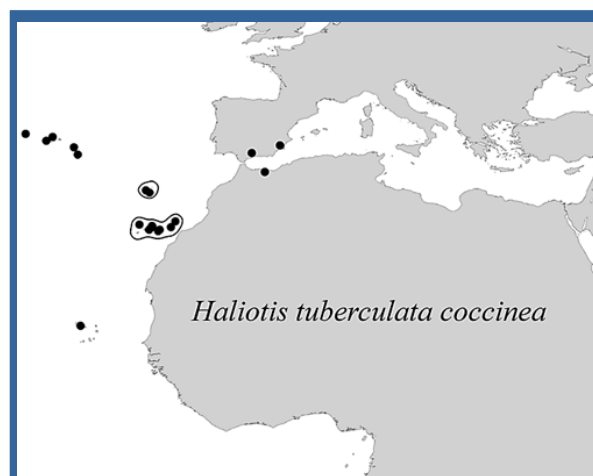


Figura 2. Distribución de *H. tuberculata coccinea* (Geiger, 2000)

La estructura de las poblaciones de *H. tuberculata coccinea* en Canarias es dispersa y los grupos de individuos aparecen disgregados en los pedregales encharcados mesolitorales y pedregales infralitorales (Espino y Herrera, 2002). Según Núñez y col. (1994), la especie es ubiquista y muestra una gran selección por el hábitat. Suele presentar buenas densidades en pedregales formados por rocas de tamaños medianos y recubiertos por algas rojas calcáreas costrosas, entre 0 y 15 metros de profundidad. Durante el día, viven adheridas a las piedras por su cara inferior, formando parte de la comunidad infralapidícola.

Estado actual de la poblaciones en Canarias

Los datos que se presentan aquí corresponden al trabajo realizado en Canarias (Fig. 3) por Espino y Herrera en el año 2002. Dicho trabajo de campo fue subvencionado por GESPLAN y la Viceconsejería de Medio Ambiente de Canarias. Los resultados obtenidos concluyeron en catalogar a *H. tuberculata coccinea* como especie en estado de *vulnerable* en el Catalogo Nacional de Especies Amenazadas de Canarias (BOC-2001/097).

Resultados para la isla de Lanzarote (Tabla II):

Se capturaron un total de 391 individuos, con un número medio por muestra de 23. Como resultado global para la isla de Lanzarote, hay que descartar que las mejores poblaciones se localizan en el norte de la isla, en la costa de Los Jameos (Punta Escamas, con una población mejor estructurada en cuanto a tallas) y en las aguas de la Reserva Marina de Interés Pesquero (Franceses y Marrajo), si bien en estas faltan también las tallas grandes. Datos facilitados por pescadores confirman la explotación de la especie en la Reserva, alcanzando un precio de venta entorno a 48 euros/kg. El resto de la isla presenta valores bastantes bajos, estando las poblaciones desestructuradas. Los valores resultantes muestran que esta especie no puede ser objeto de captura. La talla media para la isla se sitúa en 26,42mm, por debajo de la talla de primera madurez, de hecho la mayoría de los individuos se sitúan por debajo de ella. La talla máxima es de 47 mm, también bastante inferior a la regional.

Resultados para la isla de Gran Canaria (Tabla III):

En total se capturaron 207 individuos en 32 muestras, lo que da un valor medio de 6,5 individuos por muestra. La talla máxima es de 60 mm y la media es de 32,76mm. Núñez y col. (1994) encontraron tres estaciones con valor nulo para la oreja de mar en Gran Canaria: Playa del Cura, Meloneras y La Aldea. Debido, según los mismos autores, al aporte arenoso considerable que representa una condición negativa para el asentamiento de este molusco. Se observa una regresión en algunas poblaciones y una situación global mala para este molusco en la isla debido al alto grado de antropización de las costas de Gran Canaria, con numerosos vertidos costeros de todo tipo, obras y edificaciones litorales, así como una gran presión marisquera.

Resultados para la isla de Fuerteventura (Tabla IV):

En total se capturaron 237 individuos en esta isla, con una media de 8,8 individuos por muestreo. La talla media de 29,68 mm, es baja si se compara con la referencia global para el archipiélago (35,4 mm). La máxima talla encontrada es de 67 mm, próxima a la regional. La distribución de la población muestra un cierto sesgo hacia las tallas pequeñas, mientras que los individuos grandes son escasos. No obstante existe cierto potencial reproductor, al haber algunos individuos por encima de los 30mm. Aunque también estas clases de tallas presentan pocos individuos. Las causas de esta distribución son dos fundamentales: por un lado la intensa actividad marisquera a la que está sometida la isla y por otra el gran aporte de arena en sus fondos litorales, lo que limita el asentamiento y el desarrollo de las poblaciones, existe pues una limitación de hábitat.

Resultados globales para la isla de La Gomera (Tabla V):

La oreja de mar es una especie bastante escasa en esta isla. Pueden ser varios los factores que expliquen esta situación: por un lado la escasez de pedregales adecuados para el asentamiento de la especie, por otro la influencia de los fondos arenosos próximos de la plataforma de la isla, otro factor es la exposición de las costas gomeras, la mayoría influenciadas por el oleaje del viento y del mar de fondo, y por último la contaminación producida por algunos vertederos que descargan directamente al mar.

La media de individuos por muestra fue de 7,7. La talla máxima es de 58 mm y la media global es de 31,49 mm. En esta isla todas las tallas de almeja canaria están presentes, pero con un número pequeño de ejemplares.

Resultados para la isla de Tenerife (Tabla VI):

En Tenerife se midieron el mayor número de orejas de mar de todo el archipiélago. Con un total de 546 ejemplares en 39 muestras, lo que hace un promedio de 19,13 individuos. La talla máxima es de 51 mm y la media es de 28,13 mm (ambas inferiores a la máxima y media regional). Las estaciones situadas en el norte de Tenerife (6 estaciones) no pudieron realizarse debido a las malas condiciones del mar habidas durante este año, que no permitieron el acceso.

Las estaciones analizadas individualmente dan resultados que se alejan de una situación óptima de las poblaciones, sin embargo en conjunto, las estaciones de Tenerife producen una distribución de tallas próximas a una normal. El 56% de la población se encuentra por debajo de la talla de primera madurez, existiendo un cierto desplazamiento de las tallas hacia los ejemplares pequeños.

Resultados para la isla de El Hierro (Tabla VII):

En total se midieron 540 individuos de oreja de mar, con un promedio de 14,21 individuos por muestra. La talla máxima fue de 51 mm y la media de 32,44 mm. La población global de la isla puede considerarse bien estructurada, con cierto desplazamiento hacia las tallas grandes, aunque tanto los juveniles como los adultos grandes no llegan a ser abundantes. Los valores de EL Hierro superan a los de otras

islas, si bien en La Palma se capturaron 515 individuos en tan solo 8 estaciones, frente a 13 en esta isla. Si bien el análisis por estación muestra que las poblaciones no se encuentran en una buena situación, el análisis global para la isla es más óptimo. En esto pueden influir las buenas condiciones de conservación de la isla, en donde no existe una presión marisquera importante, ni tampoco un deterioro del litoral significativo.

Resultados para la isla de La Palma (Tabla VIII):

La Palma presenta una de las mejores poblaciones de *Haliotis tuberculata coccinea* de las islas, con 515 individuos capturados en 24 muestras, con un promedio de 21,46 individuos por muestra. La talla máxima para la isla es de 57 mm y la media 27,21 mm, ambas por debajo de las regionales (70 mm y 25,4 mm respectivamente). Del gráfico de frecuencia de tallas para la isla, se observa que la mayoría de los individuos (64,7%) está por debajo de la talla de primera madurez sexual (30mm). De manera que las tallas grandes son minoritarias. También hay que señalar la heterogeneidad entre las estaciones, ya que unas pocas aportan la mayoría de los individuos, mientras que las demás presentan valores bastante bajos, comparables a los de otras estaciones de otras islas. Esto demuestra la selectividad de hábitat que presenta esta especie.

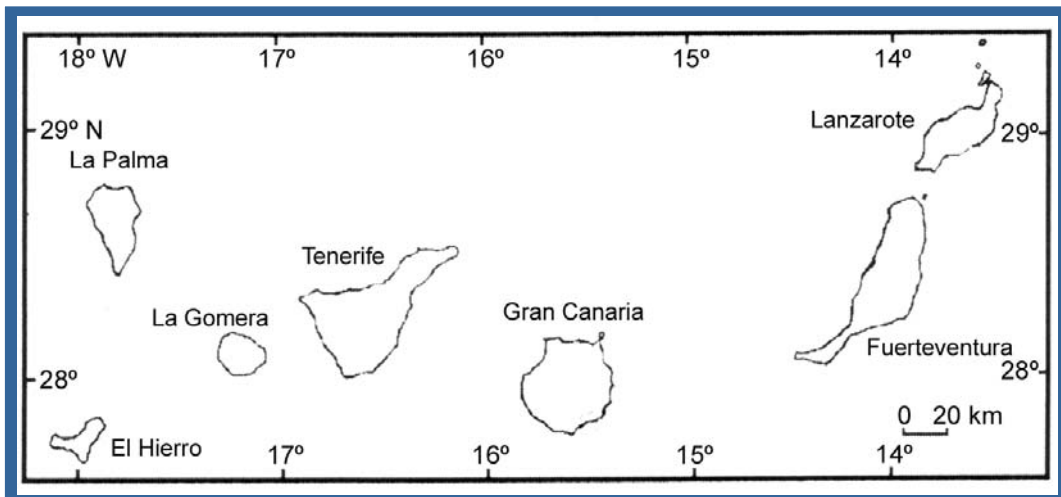


Figura 3. Mapa de las Islas Canarias

Tabla II: Isla de Lanzarote

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia **	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	Estado de conservación de la Población
Playa Franceses (La Graciosa)	0642812/3233200	16/05/02	2	Barco	Infralitoral	35 individuos	<i>Stypocaulon sp.</i>	Marisqueo	Cierta regresión
Punta del Marrajo (La Graciosa)	0653395/3227631	16/05/02	2	Barco	Infralitoral	33 individuos	<i>Stypocaulon sp.</i>	Marisqueo	Cierta regresión
La Santa (Teguise)	0630374/3221342	10/07/02	2	Tierra	Mesolitoral	1 individuo	<i>Padina pavonica</i> y <i>Stypocaulon scoparium</i>	Marisqueo y vertidos de aguas residuales	Totalmente regresivo
Punta Escamas (Haria)	0653357/3227542	16/05/02	3	Barco	Infralitoral	44,33 individuos	<i>Padina pavonica</i> y <i>Stypocaulon scoparium</i>	No se observan	Bueno
Bahía de Juan Rejón (Arrecife)	0641769/3203784	14/05/02	3	Barco	Infralitoral	19,66 individuos	<i>Padina pavonica</i> y <i>Acetabularia sp.</i>	Marisqueo y vertidos de aguas residuales	Regresivo
Puerto del Carmen	0629758/3199667	17/05/02	3	Barco	Infralitoral	13,66 individuos	Algas cespitosas	Marisqueo y volteo de piedras por buceadores	Regresivo
La Colorada (Yaiza)	0620588/3193440	17/05/02	2	Barco	Infralitoral	10 individuos	No existe	Marisqueo y desarrollo blanquiazales	Muy malo

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

Tabla III: Isla de Gran Canaria

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia**	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	Estado de conservación de la Población
Bañaderos	28R0448116/3114450	6/08/02	3	Barco	Infralitoral	21,33 individuos	<i>Taonia atomaria</i> y <i>Lobphora variegata</i>	Vertido de salmueras	Relativamente bueno
Las Canteras	28R0457012/3112821	06/06/02	3	Barco	Infralitoral	4,7 individuos	<i>Cymopolia barbata</i>	Marisqueo y proceso sedimentario arenoso	Regresión
Gando 1	28R0463474/3089970	06/06/02	3	Barco	Infralitoral	6,7 individuo	<i>Dictyota dichotoma</i>	Marisqueo y vertidos de residuos sólidos	Regresivo
Gando 2	28R0462764/3089658	06/06/02	3	Barco	Infralitoral	0,33 individuos	<i>Dictyota dichotoma</i> y <i>Liagora sp.</i>	Marisqueo	Regresivo
El Cabron	28R0462215/3082875	25/03/02	3	Barco	Infralitoral	3,33 individuos	<i>Cystoseira abies-marina.</i>	Marisqueo y vertidos de aguas residuales	Regresivo
Zoco Negro	28R0461350/3081125	25/03/02	3	Barco	Infralitoral	8 individuos	<i>Cystoseira abies-marina.</i>	Marisqueo	Regresivo
Arinaga	28R0461585/3081125	25/03/02	3	Barco	Infralitoral	8,7 individuos	<i>Cystoseira abies-marina</i> , <i>Stypocaulon scoparium</i> y <i>Cymodocea nodosa</i>	Marisqueo, vertido de aguas residuales y vertido de residuos domésticos	Regresivo
Punta Gaviota	28R0458750/3078637	09/05/02	3	Barco	Infralitoral	0,33 individuos	<i>Halopithys incurvus</i> y <i>Stypocaulon scoparium</i>	Ninguno	Regresivo
Tauro	28R0428097/3074881	28/05/02	2	Barco	Infralitoral	7 individuos	<i>Ulvaceas</i> y <i>Liagora sp.</i>	Marisqueo y vertido de aguas residuales	Regresivo
Tiritaña	28R0426361/3076066	28/05/02	3	Barco	Infralitoral	8,33 individuos	<i>Lobophora variegata</i>	Vertido de residuos sólidos domésticos	Regresivo
Veneguera	28R0421775/3080625	28/05/02	3	Barco	Infralitoral	2,7 individuos	<i>Lobophora variegata</i> y <i>D. vermicularis</i>	Ninguno	Regresivo

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

Tabla IV: Isla de Fuerteventura

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia **	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	Estado de conservación de la Población
Puertito de Lobos	28R0615520/3179397	3/04/02	3	Barco	Infralitoral	11 individuos	<i>S. scoparium</i> , <i>Caulerpa webbiana</i> y <i>A. aerophoba</i>	Marisqueo, residuos domesticos	Bueno
El Río	28R0613449/3179923	21/10/02	3	Barco	Infralitoral	0,33 individuos	Ninguna; fondos de blanquizal	Ninguno	Población ínfima
Majanicho	28R0603610/3179539	03/04/02	3	Costa	Infralitoral	2 individuos	<i>Stypocaulon scoparium</i>	Marisqueo y vertidos de residuos sólidos	Regresivo
Lavaderos	28R0613836/3179173	22/10/02	3	Barco	Infralitoral	1,7 individuos	Algas cespitosas	Ninguno	Regresivo
Playa del Perchel	28R0614599/3162401	25/04/02	3	Costa	Infralitoral	20,33 individuos	Escasez de algas	Ninguno	Bueno
La Guirra	28R0611352/3140418	25/04/02	3	Costa	Infralitoral	15,7 individuos	<i>S. scoparium</i> y <i>Aplysina aerophoba</i>	Marisqueo y obras en el litoral	Bueno
Pozo Negro	28R0608298/3130634	04/04/02	3	Costa	Infralitoral	19,7 individuos	<i>S. scoparium</i> y <i>A. aerophoba</i>	Marisqueo	Relativamente bueno
Las Playitas	28R0599668/3122829	2/04/02	3	Costa	Infralitoral	4 individuos	Algas verdes ulváceas	Marisqueo y vertido de residuos	Regresivo
Gran Tarajal	28R0596701/3120808	2/04/02	3	Costa	Infralitoral	4,3 individuos	<i>S.scoparium</i> y <i>C. nodosa</i>	Marisqueo	Regresivo

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

Tabla V: Isla de La Gomera

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia **	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	
Playa Vallehermoso	28R0278986/3121854	8/09/02	3	Barco	Infralitoral	1,7 individuos	Ninguna	Obras litorales	Regresivo
Playa Callao Largo	28R0280811/3121493	8/09/02	3	Barco	Infralitoral	4,7 individuos	<i>Liagora sp.</i> , <i>Lophocladia trichoclados</i> , <i>Taonia atomaria</i> y <i>Lobophora variegata</i>	Vertido de residuos procedentes de un vertedero	Regresivo
Playa Tejuiguel	28R0288785/3117343	8/09/02	3	Barco	Infralitoral	24,7 individuos	Algas cespitosas	Ninguno	Relativamente bueno
Playa Chinguarime	28R0285866/3103325	10/09/02	3	Barco	Infralitoral	3,3 individuos	<i>Liagora sp.</i> , y <i>Padina pavonica</i>	Ninguno	Regresivo
Playa Santiago	28R0284714/3102392	10/09/02	3	Barco	Infralitoral	11,3 individuos	<i>Styopodium zonale</i> , <i>Sargassum spp.</i> , <i>Colpomenia sinuosa</i> , <i>Dictyota sp.</i> , <i>Hidroclathrus clathratus</i>	Marisqueo	Regresivo
Playa de Alojera	28R0270706/3117602	12/09/02	3	Barco	Infralitoral	0,7 individuos	<i>Liagora sp.</i>	Marisqueo y obras en el litoral	Regresivo

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

Tabla VI: Isla de Tenerife

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia*	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	Estado de conservación de la Población
Punta Antequera	28R0389668/3156690	3/10/02	3	Barco	Infralitoral	4 individuos	Blanquizal	Marisqueo	Regresivo
Punta Panchota	28R0372984/3144112	3/10/02	3	Barco	Infralitoral	9,7 individuos	Blanquizal	Marisqueo	Regresivo
Boca Cangrejo	28R0371551/3143035	3/10/02	3	Barco	Infralitoral	23,3 individuos	Blanquizal	Marisqueo y obras litorales	Regresivo
Playa Ganado	28R0359355/3113769	3/09/02	3	Barco	Infralitoral	13,3 individuos	Blanquizal.	Marisqueo	Regresivo
Ensenada Abades	28R0358942/3113734	3/09/02	3	Barco	Infralitoral	24,3 individuos	Blanquizal.	Marisqueo	Estable
Bco Narices	28R0358330/3113763	3/09/02	3	Barco	Infralitoral	16 individuos	<i>D. dichotoma</i> y <i>Lophora variegata</i>	Marisqueo	Estable
Caleta Sordo	28R0356272/3110565	2/09/02	3	Barco	Infralitoral	27 individuos	<i>Dictyota spp.</i>	Marisqueo	Estable
Playa Tambor	28R0354506/3108608	2/09/02	3	Barco	Infralitoral	13 individuos	<i>Cystoseira abies-marina</i> y <i>S. scoparium</i>	Ninguno	Regresivo
Pto Médano	28R0349065/3102871	3/09/02	2	Barco	Infralitoral	20 individuos	<i>C. abies-marina</i> y <i>L. variegata</i>	Marisqueo	Regresivo
Pto Adeje	28R0326166/3110986	25/06/02	3	Barco	Infralitoral	21 individuos	<i>L. variegata</i>	Marisqueo	Regresivo
Pto Alcalá	28R0320306/3120786	27/06/02	3	Barco	Infralitoral	55 individuos	<i>L. variegata</i>	Marisqueo	Estable
Bco Seco	28R0318274/3128810	25/06/02	3	Barco	Infralitoral	8,3 individuos	<i>L. variegata</i> y <i>P. pavonica</i>	Marisqueo	Regresivo
Pta Diente Ajo	28R0312615/3136290	26/06/02	3	Barco	Infralitoral	13,7 individuos	<i>L. variegata</i> y <i>P. pavonica</i>	Marisqueo	Regresivo

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

Tabla VII: Isla de El Hierro

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia**	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	Estado de conservación de la Población
Tamaduste	28R0214908/3081128	9/04/02	3	Costa	Infralitoral	15,3 individuos	Algas rojas coralinas	Marisqueo	Regresivo
La Caleta	28R0215531/3078428	9/04/02	3	Costa	Infralitoral	18,3 individuos	<i>L. variegata</i> y <i>Liagora sp.</i>	Marisqueo	Regresivo
La Estaca	28R0213707/3076561	9/04/02	3	Costa	Infralitoral	7,3 individuos	<i>Lophophora variegata</i>	Marisqueo y obras litorales y portuarias	Regresivo
Playa Tijeretas	28R0213457/3075934	9/04/02	3	Costa	Infralitoral	9 individuos	<i>Lophophora variegata</i> y <i>Liagora sp.</i>	Marisqueo	Estable
Las Playas	28R0209233/3070640	9/04/02	3	Costa	Infralitoral	19 individuos	<i>Liagora sp.</i>	Marisqueo	Estable
Playa Restinga	28R0205574/3060800	16/06/02	3	Barco	Infralitoral	20,3 individuos	<i>Lophophora variegata</i> y <i>Lophocladia trichoclados</i>	Marisqueo y vertidos de aguas residuales	Regresivo
La Herradura	28R0204956/3060684	20/04/02	3	Barco	Infralitoral	22 individuos	<i>Lobophora variegata</i>	Marisqueo	Estable
Punta Lapillas	28R0793921/3063367	15/06/02	3	Barco	Infralitoral	9,7 individuos	<i>Lophophora variegata</i>	Marisqueo	Regresivo
Playa Lapillas	28R0793963/3063711	14/06/02	3	Barco	Infralitoral	11,7 individuos	<i>Lophophora variegata</i>	Marisqueo	Estable
Tacaron	28R0793379/3064196	14/06/02	3	Barco	Infralitoral	27,5 individuos	<i>Lobophora variegata</i>	Marisqueo	Estable
Punta Tifirabe	28R0793076/3064844	15/06/02	3	Barco	Infralitoral	8 individuos	<i>Lobophora variegata</i>	Marisqueo	Estable
Playa Lines	28R0792017/3066003	15/06/02	3	Barco	Infralitoral	15,3 individuos	<i>L. variegata</i> <i>Liagora sp.</i> y <i>Dictyota spp.</i>	Marisqueo	Estable
Orchilla	28R0782731/3067739	18/06/02	3	Barco	Infralitoral	9 individuos	<i>Lophophora variegata</i>	Marisqueo	Regresivo

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

Tabla VIII: Isla de La Palma

Estación	Coordenadas*	Fecha	Nº muestras	Acceso	Tipo	Índice de abundancia**	Comunidad vegetal	Factores de amenaza	Estado de conservación de la Población
Los Pedregales	28R0228039/3193547	29/09/02	3	Barco	Infralitoral	49 individuos	Algas rojas coralinas y <i>Stypocaulon scoparium</i>	Marisqueo	Bueno
Punta Caleta Grande	28R0230195/3172728	24/04/02	3	Costa	Infralitoral	27,7 individuos	Algas rojas incrustantes y costrosas	Marisqueo y obras litorales	Estable
Juan Domínguez	28R0230523/3168227	26/04/02	3	Costa	Infralitoral	42,7 individuos	Algas rojas incrustantes y costrosas	Marisqueo y vertido de agua residuales	Relativamente bueno
Pta. Poris	28R0226622/3159233	24/04/02	3	Costa	Infralitoral	3,7 individuos	<i>Liagora sp.</i>	Marisqueo y vertido de aguas residuales	Regresivo
Pta. Malpique	28R0462948/3095033	23/04/02	3	Costa	Infralitoral	8 individuos	<i>Cystoseira abies-marina</i> y <i>Liagora sp.</i>	Marisqueo	Regresivo
Pta. Larga	28R0219162/3153967	25/04/02	3	Costa	Infralitoral	8,3 individuos	<i>Cystoseira abies-marina</i> y <i>Liagora sp.</i>	Marisqueo y vertidos de aguas residuales	Estable
Pta. Del Moro	28R0210390/3175340	26/09/02	3	Barco	Infralitoral	10,7 individuos	<i>Liagora sp</i> y algas rojas	Marisqueo	Estable

* Las Coordenadas están expresadas en UTM / Geográficas.

** El índice de abundancia se refiere a la captura por unidad de esfuerzo expresada como número de individuos capturados en 30 minutos de prospección.

I.1. GALICIA (P₂)

Antecedentes

La explotación comercial de oreja de mar *Haliotis tuberculata* en Galicia se inició en los años ochenta, cuando se empezó a considerar como un nuevo e interesante recurso debido a los elevados precios que alcanzaba en Japón, que era el principal importador.

En 1991 se realizaron los primeros análisis de biotoxinas en muestras procedentes de la ría de Arousa, detectándose toxinas de tipo PSP en todos los individuos analizados

En los años 1993 y 1994, un estudio financiado a través de un Plan Nacional JACUMAR, se realizó un estudio sobre la distribución de *H. tuberculata* en las costas de Galicia. Se hicieron transectos en 216 puntos agrupados en dos áreas: a) Rías altas, en el Norte de Galicia (desde la ría de Ribadeo hasta la de Ares), en este litoral de 74 puntos muestreados, se detectó presencia de *Haliotis* en 34. b) desde Fisterra hasta la desembocadura del Miño en el sur de Galicia, de 142 zonas de muestreadas se detectó la presencia de individuos en 80 puntos.

De este estudio se concluye, que la principal cantidad de biomasa de *Haliotis tuberculata* en Galicia se encuentra en las rías bajas, apareciendo en las rías altas en menores densidades (exceptuando la Ría de Ares). También que la especie aparece asociada a sustratos rocosos, preferentemente fragmentados y fisurados. Por último que la distribución dentro de las rías suele ser en las zonas media y externa, sobre todo en aquellas con fuertes aportes fluviales. Esta distribución puede estar relacionada también a la necesidad de una buena renovación de agua, aunque en zonas no demasiado expuestas a la acción del oleaje.

Comercialización

Se prohibió desde 1993 a 2002. Desde esa fecha sólo tres cofradías (Baiona y Cangas en la Ría de Vigo y Aldán-Hío en la de Pontevedra) realizaron la extracción de *H. tuberculata*, aunque varias más contaban con planes de explotación. La forma de comercialización de la oreja de mar consiste en subastar previamente en lonja una determinada cantidad y fijar un precio mínimo, a partir del acuerdo entre el mariscador-colector y los compradores se realiza la extracción. Desde diciembre de 2005 hasta la actualidad, todos los análisis realizados vuelven a superar los límites legales de contenido en PSP, lo que impide su comercialización.

I.1. ASTURIAS (P₃)

Se pretende determinar la distribución y abundancia del recurso en la costa asturiana y evaluar la importancia del mismo con vistas a una posible regulación y explotación

El litoral asturiano se caracteriza por su gran exposición a los temporales del Norte y Noroeste, careciendo de abrigos naturales, salvo rías y estuarios. Debido a dicha circunstancia los muestreos, en un principio, se concentraron en la zona central entre Cabo Peñas y el Cabo San Lorenzo, descartando las zonas occidental y oriental por ser más expuestas.

Se realizaron 2 prospecciones, en el 2005 y 2006.

En el 2005, mes de agosto, se llevó a cabo una primera prospección para su estudio y evaluación. Para ello se seleccionaron 20 zonas costeras distribuidas en función de los factores ecológicos que condicionan su distribución espacial, fundamentalmente: exposición al oleaje, batimetría y tipo de sustrato.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se aplicó la misma metodología que se utiliza para la cartografía de las poblaciones del erizo de mar, que consiste en la determinación de las áreas de presencia, así como la evaluación de las poblaciones existentes en las distintas áreas. Para cada banco localizado se determinó la superficie, cobertura y densidad de población.

Se utilizaron tres métodos de prospección: transectos con rumbo prefijado, transecto paralelo a línea de costa y muestreo circular.

Los muestreos se realizaron únicamente en las áreas consideradas como espacio habitable como los sustratos rocosos, grietas, bloques y grandes cantos. Paralelamente se tomaron datos de batimetría y de vegetación asociada.

RESULTADOS

La oreja de mar *Haliotis tuberculata* es una especie común, presente a lo largo de la costa asturiana, fundamentalmente en zonas semiexpuestas y protegidas al abrigo de los frentes del oleaje de Noroeste, predominante.

Se distribuye entre el límite inferior de la zona litoral y los 11 metros de profundidad, con mayor abundancia entre la cota 0-5 metros, ocupando preferentemente la parte inferior de los bloques menores de 1 metro.

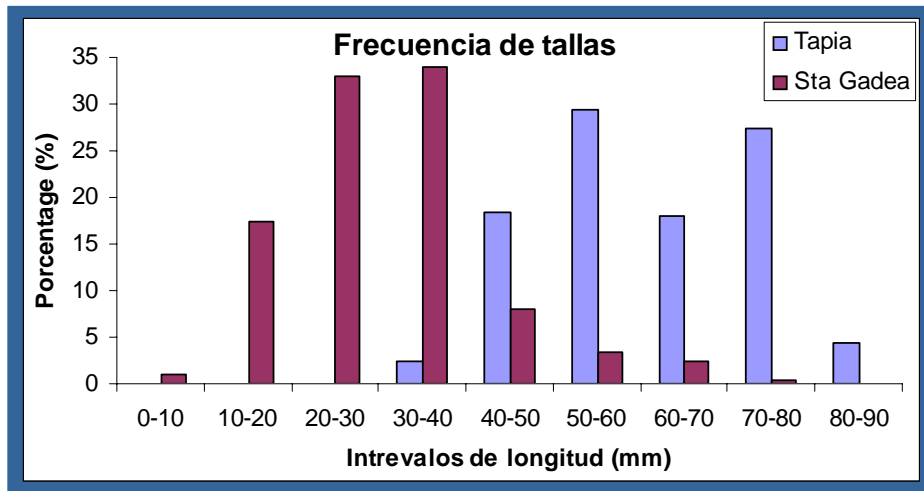
Las especies de algas asociadas fueron: *Gelidium sesquipedale*, *Cystoseira baccata*, *Dictyopteris membranacea*, *Sargasum muticum*, *Ulva sp.*, *Codium sp.*, *Saccorhiza polyschides*, *Chondrus crispus* y algas calcáreas incrustantes como el *Pseudolithophyllum expansum*.

Durante el mes de junio del 2006, se ampliaron las zonas de muestreo hacia el occidente, muestreando dos poblaciones naturales, una submareal en el puerto de Tapia de Casariego y otra intermareal en Santa Gadea.

Se capturaron 200 ejemplares de la población intermareal y 100 de la submareal y se determinaron los parámetros de longitud, anchura y peso total

Atendiendo a la longitud de cada individuo, se realizaron intervalos de talla de 10 mm, obteniendo la distribución representada en la figura.

Tabla IX. Frecuencias de tallas en dos poblaciones naturales de *H.tuberculata* (Sta. Gadea y Tapia)



Se observa que en la población asentada en la zona intermareal, la mayoría de los ejemplares, aproximadamente el 70%, se encuentra entre 20- 40mm., mientras que en la población submareal la mayoría, el 80% de los individuos, está entre 50 y 80 mm.

Atendiendo a estos resultados, se observa que la distribución de individuos adultos y juveniles es distinta. En este caso, el pedrero de Santa Gadea, intermareal, acoge a una población de juveniles, mientras que en el puerto de Tapia, submareal, se asienta una población formada casi exclusivamente por individuos maduros.

De todas maneras no podemos decir que los juveniles de *H. tuberculata* se distribuyan preferentemente en las zonas intermareales y que los adultos ocupen las submareales, ya que muestreos realizados en otras zonas del litoral asturiano contradicen esta teoría. Así, en Lastres (Centro-oriente de Asturias) encontramos en la zona submareal, a seis metros de profundidad, una importante población, formada exclusivamente por individuos juveniles que apenas llegaban a los 30 mm de longitud.

En el 2006, mes de noviembre, se llevó a cabo una nueva prospección en la zona del puerto de Tapia de Casariego, occidente de Asturias, zona seleccionada para el estudio del ciclo gametogénico. Se determinó la superficie total y dentro de ésta se calculó el espacio habitable por la especie, sobre el que se dirigieron los muestreos.

La delimitación y determinación de la superficie total se obtiene mediante el programa SIGPAC (<http://sigpac.mapa.es/fega/visor/>) del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Se consideró espacio habitable al constituido por sustrato rocoso con grietas, bloques y grandes cantos. Para calcular este espacio, a partir de un punto inicial, situado en el centro de la zona se realizan seis transectos radiales con rumbos (demora) y longitudes previamente determinadas. Durante el recorrido del transecto se efectúan mediciones lineales que se anotan en dos columnas de datos: L^+ y L^- . Las distancias medidas sobre espacio habitable se anotan en la columna L^+ . Las que corresponden a

espacio no habitable se anotan en la columna L^- . El punto final del recorrido del transecto se alcanza cuando la suma $L^+ + L^- = L_i^t$ (longitud del transecto) sea igual al valor previamente determinado. La estimación del porcentaje de espacio habitable respecto al total del área se calcula mediante la ecuación (1):

$$(\sum L_i^+ / \sum L_i^t) \times 100. \quad (1)$$

La estructura de la población, densidad y biomasa, se realizó mediante muestreos selectivos y no destructivos en tres puntos incluidos dentro del espacio habitable. La selección de las áreas de muestreo (M_1 , M_2 y M_3) se realiza mediante una prospección previa de la zona, eligiendo tres puntos distantes entre sí, que incluyan en su interior el 100% de espacio habitable. Se recogen todos los ejemplares de oreja de mar de las zonas previamente acotadas y se suben a bordo de la embarcación, donde se procede a medir su talla, devolviéndolos al mar inmediatamente. El peso se obtiene aplicando la ecuación (2):

$$y=0,1295e^{0,104x} \quad (R^2=0,949) \quad (2)$$

La ecuación representa una curva exponencial que forman los pesos y las tallas de 280 individuos de longitudes comprendidas entre los 15mm y los 90mm, donde “y” representa el peso y “x” se corresponde con la longitud.

Los datos obtenidos permiten evaluar la estructura de la población mediante la distribución en clases de talla con rangos de 5 mm y determinar valores puntuales sobre densidad de población y biomasa.

La superficie resultante de la aplicación del método descrito es de 20.000 m². El espacio habitable total en esta superficie es de 4.656 m², que corresponde con un 23,28%.

La zona resultante de los seis transectos muestreados se caracteriza por poseer un canal constituido por material sedimentario en el que predominan las gravillas y pequeñas áreas de arenas y limos. La vegetación es escasa apareciendo pequeñas algas pardas y rojas filamentosas (ectocarpales y ceramiales). Una vez superado el intervalo del canal, la zona prosigue con un suave talud en el que predominan los cantos y bloques decimétricos. En el infralitoral somero dominan las grandes algas pardas *Saccorhiza polyschides*, *Cystoseira baccata*, *Laminaria ochroleuca* y *Sargasum muticum*. La presencia de esta última se prolonga hasta el litoral inferior, donde también aparecen *Bifurcaria bifurcata* y *Fucus serratus*. La presencia de algas calcáreas incrustantes es constante, haciéndose más abundante a medida que se avanza hacia la parte exterior de la zona portuaria.

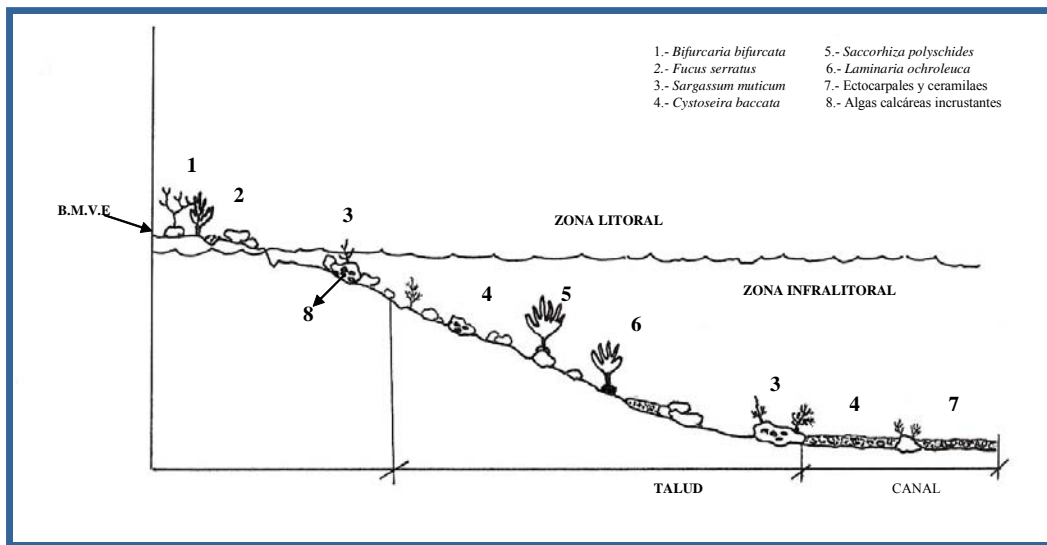


Figura 4. Perfil de un transecto interior de la dársena. BMVE (nivel de bajamar marea viva equinoccial)

Los resultados obtenidos de los tres muestreos realizados se muestran en las siguientes tablas.

Tabla X. Superficie analizada, profundidad, ejemplares encontrados (N), peso total de la muestra, biomasa puntual y densidad puntual en los tres puntos de muestreo (M1, M2 y M3)

Muestreo	Superficie (m ²)	Profundidad (BMVE)	N	Peso total (g)	Biomasa puntual (g/m ²)	Densidad puntual (ejemplares/m ²)
M1	10	4,8 m	31	22,06	2,20	3,10
M2	14	2,8 m	17	90,05	6,42	1,21
M3	16	0,3 m	15	90,64	5,66	0,93

Estructura de la población dividida en clases de tallas (I-XI) de 5mm donde; “N-1-2-3” es el número de ejemplares por clase de talla y por muestra (M1, M2 y M3 respectivamente), “Nt” es el número de ejemplares por clase de talla para el conjunto de las muestras, “P” es el peso del total de ejemplares por clase de talla y “%P” es la contribución porcentual de cada clase de talla a la biomasa.

Tabla XI. Biometrías

Clase mm	I 0,0-4,9	II 5,0-9,9	III 10,0-14,9	IV 15,0-19,9	V 20,0-24,9	VI 25,0-29,9	VII 30,0-34,9	VIII 35,0-39,9	IX 40,0-44,9	X 45,0-49,9	XI 50,0-54,9
N1	3	10	8	6	2	1	1	0	0	0	0
N2	0	0	2	6	1	1	2	0	3	1	1
N3	0	1	2	0	0	0	6	3	2	1	0
N	3	11	12	12	3	2	9	3	5	2	1
P(g)	0,6	2,98	5,68	10,13	3,9	5,07	34,93	18,49	55,6	33,92	26,45
%P	0,29	1,46	2,81	4,99	1,93	2,51	17,23	9,12	27,43	19,19	13,04

N1-23.- Número de individuos por clase de talla y por muestra (M1, M2 y M3, respectivamente)
Ntotal.- Número de individuos por clase de talla para el conjunto de las muestras.
M.- Peso en g del total de individuos por clase de talla.
%M.- Contribución porcentual de cada clase de talla a la biomasa.

Extrapolando estos resultados al conjunto de la zona se obtiene una biomasa de 1,17 g/m², que referida al espacio habitable es de 5,06 g/m². La biomasa total es de 23,4 kg y la densidad de población ecológica es de 1,55 ejemplares/m².

A la vista de los resultados obtenidos, la estructura de la población está compuesta principalmente por ejemplares jóvenes, por lo que la biomasa final resulta insuficiente como para plantear una explotación del banco a nivel comercial.

Esto puede deberse a que la zona muestreada se encuentra en el intermareal e infralitoral somero, a poca profundidad, sirviendo de semillero para la fracción de la población que actúa como reproductora. Esta parte de la población compuesta por individuos adultos permanecería en las zonas profundas y poco accesibles, aportando reclutas a la zona superior.

Los muestreos se realizaron en noviembre, época en la que la cobertura por macroalgas en la zona portuaria disminuye considerablemente con respecto a otras épocas del año, llegando prácticamente a desaparecer las principales especies, como *Laminaria*, *Saccorhiza* y *Ulva*, de las que las orejas se alimentan y utilizan como refugio (Guyas M. G., *et al.*, 1998). Ante la ausencia de alimento y cobijo en las zonas superiores, los individuos adultos pueden migrar a zonas inferiores que les sean más propicias para afrontar la época invernal. Según observaciones personales, en muestreos posteriores en otras épocas del año en las que la cobertura por macroalgas condiciona el litoral, la presencia de individuos adultos se hace patente, sin embargo, no existen datos para contrastar la abundancia de la especie y las clases de edad que componen la población.

CONCLUSIONES

De los 20.000 m² muestreados en el entorno portuario de Tapia de Casariego, el espacio habitable por la especie se corresponde con el 23%. La vegetación

predominante en la zona del canal esta compuesta por pequeñas algas pardas y rojas filamentosas (ectocarpales y ceramiales).

En el infralitoral somero dominan las grandes algas pardas *Saccorhiza polyschides*, *Cystoseira baccata*, *Laminaria ochroleuca* y *Sargasum muticum*. La presencia de esta última se prolonga hasta el litoral inferior, donde también aparecen *Bifurcaria bifurcata* y *Fucus serratus*. La presencia de algas calcáreas incrustantes es constante, haciéndose más abundante a medida que se avanza hacia la parte exterior de la zona portuaria.

La biomasa de *Haliotis tuberculata* es de 1,17 g/m², que referida al espacio habitable es de 5,06 g/m². La biomasa total es de 23,4 kg y la densidad de población ecológica es de 1,55 ejemplares/m². La estructura de la población está compuesta principalmente por ejemplares jóvenes. Esto puede deberse a que la zona muestreada se encuentra en el intermareal e infralitoral somero, a poca profundidad, sirviendo de semillero para la fracción de la población que actúa como reproductora. Esta parte de la población compuesta por individuos adultos permanecería en las zonas profundas y poco accesibles, aportando reclutas a la zona superior.

La oreja de mar *Haliotis tuberculata* es una especie que está presente a lo largo de la costa asturiana, fundamentalmente en zonas semiexpuestas y protegidas al abrigo de los frentes del oleaje de Noroeste, predominante.

Se distribuye entre el límite inferior de la zona litoral y los 11 metros de profundidad, con mayor abundancia entre la cota 0-5 metros, ocupando preferentemente la parte inferior de los bloques menores de 1 metro.

La información obtenida nos permite hacer una primera valoración acerca de su distribución, abundancia y preferencias de la especie, así como disponer y conocer zonas que nos puedan suministrar los ejemplares necesarios, para los controles y estudios sobre el ciclo reproductivo, obtención de reproductores y juveniles para el desarrollo de las distintas experiencias de engorde y de cultivo que se vayan planteando.

TAREA I.2. Viabilidad comercial de la explotación de la oreja de mar (P₂ y P₃)

I.2. GALICIA (P₂)

Los niveles de PSP que limitan la comercialización

El principal problema para la explotación de este recurso es la presencia de biotoxinas en concentraciones superiores al límite legal¹, lo que impide su comercialización.

¹ El Decreto 28/2005 de la Xunta de Galicia, regula el control de las biotoxinas en moluscos bivalvos y otros organismos procedentes de la pesca, el marisqueo y la acuicultura. El nivel máximo de toxina paralizante (PSP) en las partes comestibles (cuerpo entero o cualquier parte consumible por separado), será de 80 microgramos de equivalentes de saxitoxina por 100 gramos de vianda, utilizando para su determinación la técnica del bioensayo en ratón o su equivalente.

crustáceos, por transmisión por vía cadena trófica. Existen pocas referencias en lo que se refiere a gasterópodos herbívoros, aunque un caso similar al de *H. tuberculata* en Galicia fue la aparición de toxinas PSP en *Haliotis midae* en Sudáfrica en 1999. En este caso se atribuyó la toxicidad en un principio al dinoflagelado *Alexandrium catenella*, sugiriéndose más tarde como causante la macroalga *Eklonia máxima*. Se observó también la falta de detoxificación de los moluscos en condiciones de laboratorio controladas durante 7 meses. Otra posible causa de la producción de PSP pueden ser procariotas, principalmente cianobacterias.

Algunas conclusiones de esta tesis fueron las siguientes:

- No se observaron diferencias significativas entre el contenido de toxinas de orejas de mar de distintas zonas de Galicia (costa de Lugo, norte de A Coruña y rías de Pontevedra y Vigo) en muestreos realizados en siete puntos en diciembre de 1994 y abril de 1995.
- En ninguno de estos muestreos se detectó una toxicidad media inferior a 80 microgramos de STX eq/100 gramos ni se encontró ningún individuo sin contenido de toxinas. No se observó disminución del contenido de toxinas en individuos mantenidos en laboratorio en condiciones controladas.
- El contenido en toxinas es mucho más elevado (300 veces) en la epidermis lateral del pie que en las vísceras y el resto del molusco.
- Se considera como más probable la hipótesis del origen trófico de las toxinas, aunque ninguno de los dos dinoflagelados productores de toxinas PSP conocidos en Galicia (*Alexandrium minutum* y *Gymnodinium catenatum*) explicarían la toxicidad debido a que sus respectivos perfiles de toxicidad no se corresponden. Además, sus distribuciones geográficas tampoco coinciden con los lugares donde se encontró toxicidad en la oreja de mar.

I. 2.2. Comercialización

La normativa de venta de oreja de mar dispone subastar primero en lonja la cantidad deseada con un precio mínimo y después realizar la extracción, para lo que es necesario que se llegue a un acuerdo entre el comprador y los mariscadores.

Para explotar este recurso es necesario que la cofradía posea el correspondiente plan de explotación aprobado por la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos, en el que se detallan las zonas de trabajo, épocas y días máximos de extracción y puntos de control. Se admite su extracción mediante buceo en apnea o con suministro de aire desde superficie.

Tabla XII. Relación de Cofradías de Pescadores con Planes de Explotación aprobados en los últimos años, que reflejan la posibilidad de explotación comercial por los colectivos de mariscadores en las zonas que se indican.

Zona	Año			
	2005	2006	2007	2008
Ría de Vigo	Aldán Cangas	Aldán Cangas Bueu	Aldán Cangas Bueu	Aldán-Hio Cangas Bueu
Ría de Pontevedra	Pontevedra Marín Portonovo Lourizán,Raxó Sanxenxo,Bueu	Pontevedra, Marín Portonovo Lourizán,Raxó, Sanxenxo	Pontevedra, Marín Portonovo Lourizán,Raxó Sanxenxo	Pontevedra Marín Portonovo Lourizán,Raxó Sanxenxo
Ría de Arousa	Illa Arousa	Illa Arousa O Grove	Illa de Arousa	Illa de Arousa
Rías Centrales y Altas	Barallobre, Ares Fisterra,Lira Corcubión			

Tabla XIII. Datos de venta en lonja de oreja de mar, en los años que fue posible la explotación del recurso. Prorcionados por la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos de la Xunta de Galicia

Año	Kgs.	Importe (€)	Precio medio/kg
2002	368,75	8.864,41	24,04
2004	145,00	2.460,00	16,97
2005	236,4	4.274,20	18,08
TOTAL	750,15	15.598,61	

I. 2.3. Cultivo

Se encuentra en desarrollo un proyecto de planta de cultivo en la localidad de Muros presentado por la empresa Galician Marine Aquaculture³ en la que se realizaría

³ Según los datos publicados en la revista ipac (15.11.08, nº34), en esta planta se utilizaría un sistema de recirculación con filtración y tratamiento del flujo y la alimentación sería prioritariamente a base de algas, utilizando piensos en casos excepcionales. Las previsiones de la empresa son introducir en las

la producción de semilla, preengorde y engorde de *Haliotis tuberculata* y *Haliotis discus hannai* (para la introducción de esta última especie recibió autorización de la Xunta de Galicia en octubre de 2008).

I.2. ASTURIAS (P₃)

En Asturias la oreja de mar, no es objeto de explotación, a la vez que no existe tradición de consumo. A la vista de los resultados obtenidos y las características de la propia costa asturiana, con pocas zonas protegidas y refugios adecuados para el asentamiento de la especie, no parece ser un recurso con potencial extractivo de los propios bancos naturales, aunque si interesante para su explotación mediante el engorde de semilla obtenida de cultivo, con progenitores procedentes del medio natural.

TAREA I.3. Seguimiento de las posibles patologías en ejemplares salvajes (P₂ y P₃)

I.3. GALICIA (P₂)

Patologías en ejemplares salvajes mediante estudio histopatológico

Los cultivos marinos que se realizan con gran densidad de población, son un medio apropiado para el desarrollo de patologías que en mayor o menor grado pueden repercutir negativamente en el desarrollo del cultivo.

Numerosas enfermedades han sido descritas desde hace tiempo siendo la detención en el crecimiento, diversas lesiones y, en la mayoría de los casos altas mortalidades, los síntomas más evidentes del estado presumible de una enfermedad. Aunque en la mayoría de los casos se ha encontrado una relación entre las mortalidades y los agentes infecciosos, en otros casos han quedado sin explicación real. Es probable que una sinergia de diferentes causas como variaciones desfavorables del medio, condiciones poco apropiadas de cría u otros factores a determinar provoquen también mortalidades.

En el presente apartado de patología se contemplaba analizar, tanto poblaciones naturales de *Haliotis tuberculata*, como también otras poblaciones como semilla procedente de importación de *H. tuberculata*, con la que se había planificado realizar diferentes experiencias de cultivo.

instalaciones el primer año 2.500 adultos y unos 700.000 juveniles, a los que se sumarán otros 500.000 juveniles más en el segundo ejercicio. Su objetivo es conseguir individuos de 8 o 9 centímetros en un periodo de cultivo de tres a tres años y medio, cuyo destino será la exportación en vivo o congelado con concha.

Una parte de lo que se planteaba realizar en este proyecto, con la semilla de importación, se modificó debido a la aparición en el año 2005 de dos importantes problemas patológicos en una población procedente de Irlanda y cultivada en la ría de Arousa. Así en esta población Azevedo et al. (2006), detectan un parásito del G. Haplosporidium, clasificado como *Haplosporidium montforti* n. sp., realizando posteriormente un estudio ultraestructural sobre el ciclo de vida de este parásito (Azevedo et al., 2008). También sobre esta misma población Azevedo et al. (2006) detectaron organismos tipo-Rickettsia.

La aparición de estos dos problemas patológicos asociados a elevadas mortalidades, marcó la planificación de una parte de este proyecto, por la implicación que tiene sobre el propio cultivo de las poblaciones afectadas, como también como posible vector de la introducción de nuevos problemas patológicos que pudieran afectar al cultivo de otros moluscos, lo que obligó a ser extremadamente restrictivos con cualquier planteamiento de introducción de semilla procedente de importación.

En relación a las poblaciones naturales, se programaron controles trimestrales desde Febrero del 2006 hasta Octubre de 2008. Estos muestreos se llevaron a cabo en las Illas Cíes (entrada de la ría de Vigo) desde Enero del 2006 hasta Septiembre del 2008, Isla de Arousa (ría de Arousa) desde Enero del 2006 hasta Abril del 2007, sustituyendo esta zona en el año 2008, por la zona de Fisterra (de Febrero a Agosto de 2008). Esta sustitución se debió a la dificultad en la realización de los muestreos en la zona de la Isla de Arousa.

Para los análisis patológicos se cogen en torno a 20 ejemplares por muestreo. Una vez en Laboratorio se toman los diversos datos biométricos, y se realiza la técnica histológica, con fijación en Davidson, cortes de microtomo de 5 micras y tinción con hematoxilina y eosina.

El análisis microscópico, no detecta patologías que pudieran considerarse como preocupantes para el desarrollo del cultivo. Mencionar como dato relevante que no se encontraron casos ni de *Haplosporidium montforti*, ni de organismos tipo-Rickettsia comentados anteriormente, lo cual es un dato positivo de cara a la explotación de este recurso.

CONCLUSIONES

- La especie está presente en toda la franja litoral de Galicia, con mayor presencia en las Rías Bajas.
- La presencia de PSP por encima de los límites permitidos, limita su extracción. Por este motivo está cerrada la explotación comercial desde 1995.
- En las poblaciones silvestres no se detectaron los parásitos del género Haplosporidium que en estos años afectaron a buen número de las producciones de semilla de criaderos.

I.3. ASTURIAS (P₃)

La metodología se basa en el estudio histopatológico de las poblaciones naturales, en las 2 zonas de muestreo seleccionadas.

Se muestrearon 20 ejemplares al mes. Los individuos son analizados macroscópicamente, procesando 10 de ellos par la realización de estudios histopatológicos, mediante la fijación en Davidson y la tinción con Hematoxilina-Eosina.

Los resultados muestran, como patología más relevante, la presencia de Tremátodos en la gónada.



Figura 6. Apéndices Conicales de macho, hembra y parasitación por Tremátodos

En la figura, podemos observar el cambio de coloración que se produce en una gónada parasitada por tremátodos. Mediante la observación microscópica de los cortes histológicos realizados en dichas gónadas parasitadas podemos ver la castración total o parcial de la misma, por la presencia de Tremátodos.

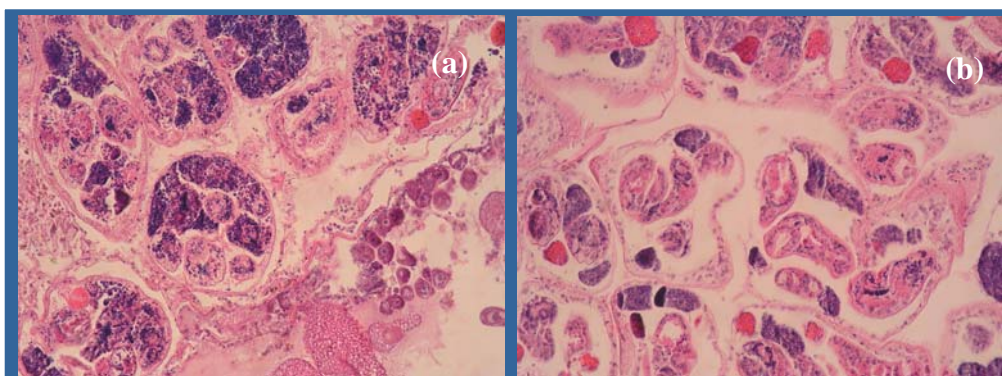


Figura 7. Microfotografías de gónadas parcial(a) y totalmente (b) parasitadas por trematodos. (T: tremátodos; O: ovocitos)

La incidencia y grado de infestación en los controles realizados fueron del 10% en la zona de “Gijón”, en el 2006 y del 5% en “Gijón y 2% en la zona de occidente, durante el 2007.

Línea II. Mejora del control de la reproducción

TAREA II.1.: Caracterización del ciclo reproductivo de *H. tuberculata* spp.(P₁, P₂, P₃)

II.1. CANARIAS (P₁)

En esta tarea se determinó la gametogénesis femenina de la oreja de mar, su fecundidad, el período de puesta a lo largo del año y la descripción de las diferentes etapas del ciclo reproductivo para hembras y machos a lo largo de dos ciclos anuales. Así mismo se estableció la estructura de la población analizada.

INTRODUCCIÓN

El ciclo reproductivo de varias especies de abalone ha sido estudiado en varias regiones del mundo (Booolootian y col., 1962; Tomita, 1967; Newman, 1967; Webber y Giese, 1969; Poore, 1970; Young y DeMartini, 1970; Hayashi, 1980; Tutschule y Connell, 1981; Capinpin y col., 1998; Fukuzawa y col., 2007) contribuyendo a desarrollar e incrementar las técnicas artificiales de cultivo de varias especies de abalone y aumentando la actividad de acuicultura alrededor del mundo (ejemplo *H. discus hannai* y *H. rufescens*).

Actualmente, en Europa *H. tuberculata tuberculata* Linnaeus (1758) es la única especie comercial autóctona. Se consideró un potencial para la acuicultura en 1970 en Francia y su pesquería y cultivo creció significativamente a principios de 1990 debido al incremento del comercio exterior (globalización de precios y eficacia en el transporte) (Huchette y Clavier, 2004). Recientemente se han desarrollado nuevas técnicas de producción de juveniles, permitiendo una rápida expansión de la industria (Daume y col., 2004; Roberts y col., 2004). Actualmente Irlanda y las Islas del Canal de La Mancha (Huchette y Clavier, 2004), Escocia (Kelly y Owen, 2002) y Francia son los países productores estables, aunque ensayos de cultivo también se han llevado a cabo en España.

La subespecie de *H. tuberculata*, *H. tuberculata coccinea* Reeve (1846), está presente en la región Macaronésica (Geiger, 2000). En las Islas Canarias se encuentra distribuida en áreas semi-expuestas y expuestas desde la zona intermareal hasta profundidades de 15 m, con afinidad por hábitats específicos (Nuñez y col., 1994; Espino y Herrera, 2002). Las algas coralinas rojas ofrecen un substrato óptimo para el asentamiento de larvas y la metamorfosis (Morse y Morse, 1984). De hecho, Espino y Herrera (2002) observaron altas densidades de juveniles y adultos de *H. tuberculata coccinea* en rocas incrustadas con algas coralinas rojas. Así mismo, el hábitat está relacionado con la aportación de algas a la deriva que aportan las corrientes. La cantidad de estas algas determina la densidad de la población que puede soportar el hábitat (Clavier y Chardy, 1989).

Esta subespecie ha sido sobreexplotada dado su alto valor socio-económico. Después de los estudios realizados por Nuñez y col. (1994) y Espino y Herrera (2002), ha sido clasificada como una especie en estado de *vulnerable* en el Catálogo de Especies Amenazadas de Canarias (BOC-2001/097).

En estos estudios fueron evaluadas las poblaciones en las Islas Canarias concluyendo que esta subespecie no puede soportar ninguna explotación pesquera en Canarias. Recientemente, el Gobierno de Canarias se ha interesado en programas de repoblación, además de considerar a *H. tuberculata coccinea* como una nueva especie para la diversificación de la acuicultura comercial. Su inducción a la puesta ha sido estudiada por Peña (1986) y más recientemente, se ha descrito su desarrollo embriológico y larvario así como los requerimientos nutricionales de juveniles (Courtois de Vico y col., 2007; Viera y col., 2005).

Sin embargo, no hay información sobre los factores medioambientales que afectan al ciclo reproductivo en *H. tuberculata coccinea*. En otras especies parece ser la temperatura el factor que más afecta a la reproducción (Newman, 1967; Girard, 1972; Hayashi, 1980; Uki and Kikuchi, 1984; Counihan et al., 2001). En este sentido, el acondicionamiento de reproductores y la inducción a la puesta en un criadero se programan cuando la temperatura es apropiada, específica para especie de abalone. Otro parámetro importante en las tareas de un criadero son las relacionadas con la fecundidad respecto a la talla del animal. Esta información puede ser utilizada para seleccionar la talla adecuada de acondicionamiento de reproductores con el fin de optimizar la producción de huevos.

El objetivo del presente estudio es la recopilación de información referente a la sexualidad, reproducción, fecundidad y crecimiento de *H. tuberculata coccinea*. Este conocimiento podrá utilizarse en las tareas de criadero con fines comerciales o repoblacionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreos

Se capturaron, entre junio del 2005 y mayo del 2007, muestras de 20 individuos a una profundidad menor de 10 m en La Bahía del Castillo del Romeral, en la isla de Gran Canaria (Figura 8).

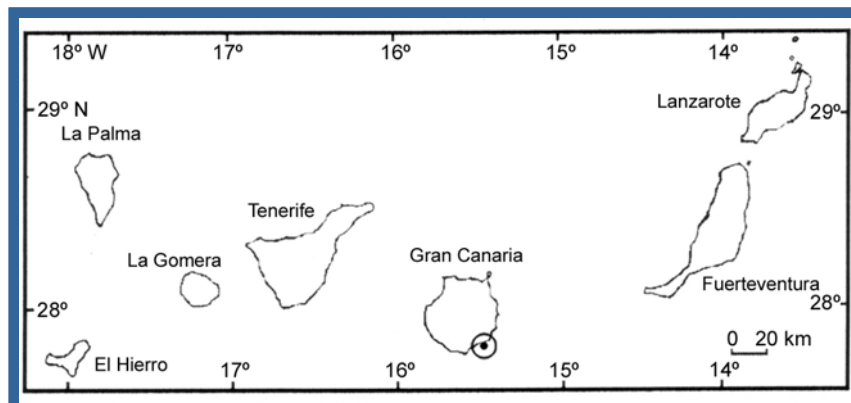


Figura 8. Mapa de las Islas Canarias. El círculo representa la localización del muestreo

Los individuos se trasladaron al Instituto Canario de Ciencias marinas (ICCM) y se tomaron medidas biométricas; longitud total (SL) hasta 0,5 mm y peso del cuerpo en fresco (W) hasta 0,1 g (Fig. 9).



Figura 9. Traslado de ejemplares y toma de medidas biométricas en el ICCM.

El apéndice conical, órgano que se compone de la glándula digestiva rodeada por la gónada se diseccionó y se pesó hasta 0,001 g (Fig. 10).

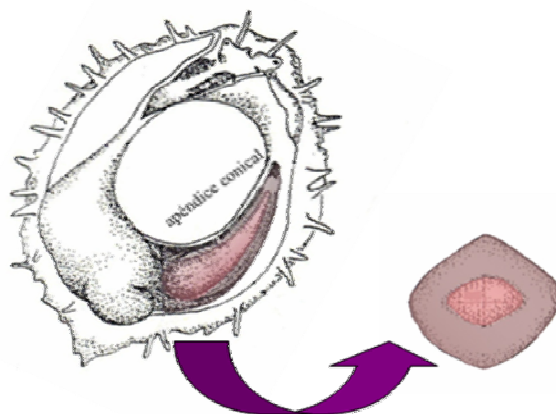


Figura 10. Apéndice conical compuesto por la glándula digestiva (color rosa) y gónada (violeta)

Morfología del ovario

La región basal, media y apical del apéndice conical se fijaron en formalina al 10% para los estudios histológicos. Después de 24-48 h, las muestras se deshidrataron y se infiltraron en parafina para obtener bloques de parafina. Estos bloques se cortaron a 4-5 μm y se tiñeron con hematoxilina y eosina de Harris (Fig. 11). Las 3 regiones del apéndice conical (basal, medio y apical) se observaron bajo el microscopio con el fin de determinar el proceso oogénico en las gónadas femeninas. Los estados de oocitos se asignaron de acuerdo con la clasificación realizada por Apisawetakan y *col.* (2001) para *H. asinina*.

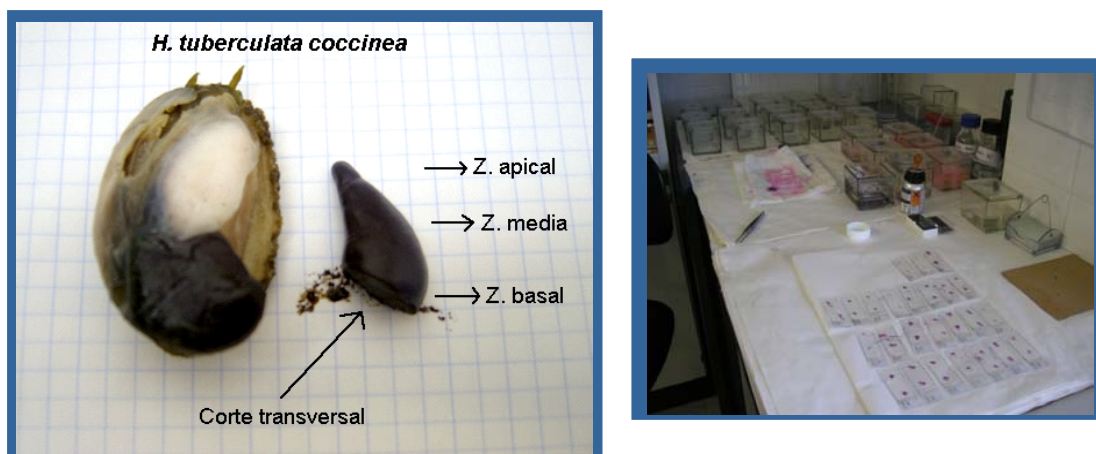


Figura 11. Disección del apéndice conical y localización de las tres zonas (Z). En la segunda foto se muestra la tinción de las muestras con hematoxilina y eosina de Harris.

Sexualidad y ciclo reproductivo

El sexo de cada individuo se asignó por la coloración de la gónada (gris en hembras y beige en machos) certificándose microscópicamente por la presencia de oocitos y espermatozoides (Fig. 12). Los estados de madurez (MS) de las gónadas se asignaron de acuerdo con la clasificación descrita por Capinpin y *col.* (1998) (Tabla XIV). Con el fin de determinar el ciclo reproductivo, se calcularon los siguientes índices gonadosomáticos mensualmente (Hanh, 1989):

1. Índice gonadosomático (GBI): es el porcentaje del tejido de la gónada en la base del apéndice conical. $\text{GBI} = (\text{área de la gónada en la sección} / \text{área total de la sección}) * 100$.
2. Porcentaje de frecuencias de los estados de madurez (EM)

3. Diámetro de oocitos (OD): Se midieron el diámetro de 100 oocitos con la ayuda del programa informático Image Pro-plus. Las medidas se tomaron solamente en aquellos oocitos que contenían el nucléolo. Se tuvieron en cuenta el diámetro máximo y mínimo de la célula.

Fecundidad

El comportamiento de la fecundidad anual se asignó mediante la distribución de frecuencias de tallas en el tamaño de oocitos. Para ello, se seleccionaron hembras entre 37 y 47 mm, en estado maduro en noviembre y marzo, representando el desarrollo gonadal al principio y final de la máxima actividad reproductiva en la población (resultado del presente estudio).

Con el fin de estimar la fecundidad se utilizó el método gravimétrico (modificado de Hayashi, 1980). Doce apéndices conicales de hembras en estado maduro, procedentes al mes de octubre, se diseccionaron y pesaron hasta 0,001 mg. Se tomaron submuestras de las tres zonas representativas (región basal, media y apical) de cada apéndice conical. Estas submuestras se pesaron y con la ayuda de una aguja se desprendieron los oocitos de la trabícula para ser contados. La fecundidad se definió como el número de oocitos en estado 4 y 5. Con el fin de calcular el porcentaje de estos oocitos en cada región, la gónada se fijo en formalina al 10% para el estudio histológico. Las secciones correspondientes a las tres zonas representativas del apéndice conical (basal, media y apical) se fotografiaron y bajo el microscopio se identificaron 150 oocitos clasificados en dos grupos: estados 1-3 y estados 4-5.

Tabla XIV: Estados de madurez según Capinpin y col. (1998).

<i>Estados de maduración</i>	<i>Características</i>
<i>Pre-proliferativo</i>	Se caracteriza por una trabícula fina o inexistente entre la epidermis exterior y la glándula digestiva en machos y hembras.
<i>Proliferativo</i>	Hembras: En la trabícula aparecen oogonias (5-8 μm) y cluster de oogonias. Machos: En la trabícula aparecen espermatogonias (5 μm) de forma cuboidal.
<i>Madurando</i>	Hembras: La gónada se hace más protuberante llena de oocitos de 25 μm . La vitelogenesis comienza en este estado. Machos: Aparecen los primeros estados gaméticos alrededor de la trabícula. Una fina capa de espermatidas o espermatozoides puede estar presente.
<i>Maduro</i>	Hembras: Los oocitos son >125 μm . Los oocitos maduros permanecen libres en el lumen y miden 150 μm . La proliferación de oocitos <25 μm es común, especialmente cerca de la epidermis exterior e interior. Machos: Aparecen espermatozoides densamente empaquetados. Estados primarios quedan reducidos alrededor de la trabícula.
<i>Parcialmente desovado</i>	Hembras: El ovario contiene una densidad reducida de oocitos maduros en comparación a la gónada en estado <i>maduro</i> . <i>En algunas partes se pueden observar oocitos maduros densamente empaquetados.</i> Machos: En el lumen aparecen huecos donde faltan espermatozoides. Otras áreas aparecen como el estado <i>maduro</i> .
<i>Vacío</i>	Se caracteriza por la ausencia de gametos maduros y ninguna actividad gamética. Macroscópicamente la gónada es muy reducida. Pueden aparecer oocitos o espermatozoides residuales.

Por último, los resultados de fecundidad fueron relacionados con la longitud del animal. Las hembras fueron divididas en tres clases de talla (35-44, 45-54 y 55-64 mm) y los resultados de fecundidad se analizaron mediante un análisis estadístico ANOVA y un test Tukey para la comparación múltiple de las medias ($P < 0,05$).



Figura 12. Coloración de la gónada en hembras (gris) y machos (beige).

Estructura de la población

La normalidad de las medias de la longitud de concha se determinó mediante un test Kolmogorov-Smirnov para cada sexo. El mismo test estadístico se utilizó para el estudio comparativo de la distribución de tallas. El análisis t-Student se aplicó como test no paramétrico con el fin de comparar las medias en función del sexo (Zar, 1996). Así mismo, las relaciones longitud respecto al peso fresco, en función del sexo, se calcularon a lo largo de todo el periodo de estudio.

El sex-ratio (machos:hembras) y el sex-ratio para cada intervalo de talla (2 mm) se determinaron considerando el número de machos y hembras. Se aplicó un test chi-square ($P > 0,05$) para observar diferencias significativas que desviasen los resultados de la relación esperada 1:1.

Crecimiento

La estimación de crecimiento para cada sexo se realizó mediante el estudio de frecuencias de talla (Método de Pauly, Pauly, 1983). Los parámetros de crecimiento de la curva Von Bertalanffy se calcularon con la ayuda del programa informático FAO-ICLARM (FISAT ver.1.2). La estimación de L_{∞} se calculó mediante el método Gulland y Holts, mientras que el valor de k fue estimado con el programa ELEFAN I (Gavanilo y Pauly, 1997). Con el fin de comparar el crecimiento de ambos sexos se calculó el índice *Phi de Munro* ($\phi' = \log k + 2 \log L_{\infty}$) de acuerdo con Sparre y col. (1989).

RESULTADOS

Morfología del ovario

El estudio histológico reveló que el apéndice conical incluye la glándula digestiva rodeada por el ovario y se clasificó en tres regiones en función de la presencia de ambos tejidos. En la *región basal*, la glándula digestiva ocupó la mayoría de la sección transversal, en la *región media*, el ovario ocupó la mayoría de la sección transversal mientras que en la *región apical* solamente estuvo presente el tejido de ovario. El ovario se encontró envuelto por dos paredes celulares que lo separan del manto y de la glándula digestiva. El tejido conectivo se extendió perpendicularmente en la gónada generando la trabícula, dividiendo la gónada en compartimientos donde se desarrollan los oocitos. Los primeros estados de oocitos aparecieron unidos a la trabícula, mientras que los oocitos maduros se formaban cerca del lumen. La trabícula fue más fina a medida que el ovario alcanzaba la maduración. Se definieron dos fases y seis estados de células gaméticas femeninas (Fig. 13 a-e):

Fase previtelogénica:

- Oogonia (Og): célula redonda de $10,66 \pm 2,7 \mu\text{m}$, unida fuertemente a la trabícula, núcleo basófilo rodeado de un citoplasma homogéneo basófilo (Fig. 13a).
- Estado I oocito (Oc₁): célula ovalada con un diámetro máximo de $26,47 \pm 6,44 \mu\text{m}$ y un diámetro mínimo de $15,48 \pm 4,05 \mu\text{m}$, fuertemente adherida a la trabícula, núcleo redondo con membrana nuclear difusa, rodeado de células foliculares (Fig. 13b).
- Estado II oocito (Oc₂): célula alargada con un diámetro máximo de $60,51 \pm 17,32 \mu\text{m}$ y un diámetro mínimo de $33,15 \pm 13,04 \mu\text{m}$, unida a la trabícula solamente por la región basal, núcleo de forma ovalado, aparición de las primeras vacuolas lipídicas (Fig. 13b, c).

Fase vitelogénica:

- Estado III oocito (Oc₃): célula con forma de pera con un diámetro máximo de $110,30 \pm 21,02 \mu\text{m}$ y un diámetro mínimo de $59,64 \pm 21,02 \mu\text{m}$, incremento del número de vacuolas lipídicas, aparición de las primeras vacuolas vitelinas con comportamiento eosinófilo (Fig. 13c).
- Estado IV oocito (Oc₄): célula de forma poligonal con un diámetro máximo de $162,25 \pm 28,76 \mu\text{m}$ y un diámetro mínimo de $103,2 \pm 23,49 \mu\text{m}$, unido a la trabícula mediante una superficie pequeña, el citoplasma contiene vacuolas vitelinas y numerosas vacuolas lipídicas, migración de gránulos de secreción con propiedad basófila hacia la membrana plasmática, células foliculares presentes en las zonas basales de la célula. Aparición de una fina capa de corion (Fig. 13d).
- Estado V oocito (Oc₅): célula de forma poligonal con un diámetro máximo de $171,77 \pm 28,75 \mu\text{m}$ y un diámetro mínimo de $114,91 \pm 26,51 \mu\text{m}$, desplazamiento del oocito al lumen del ovario, ausencia de células foliculares, agregación de vacuolas vitelinas (Fig. 13e).

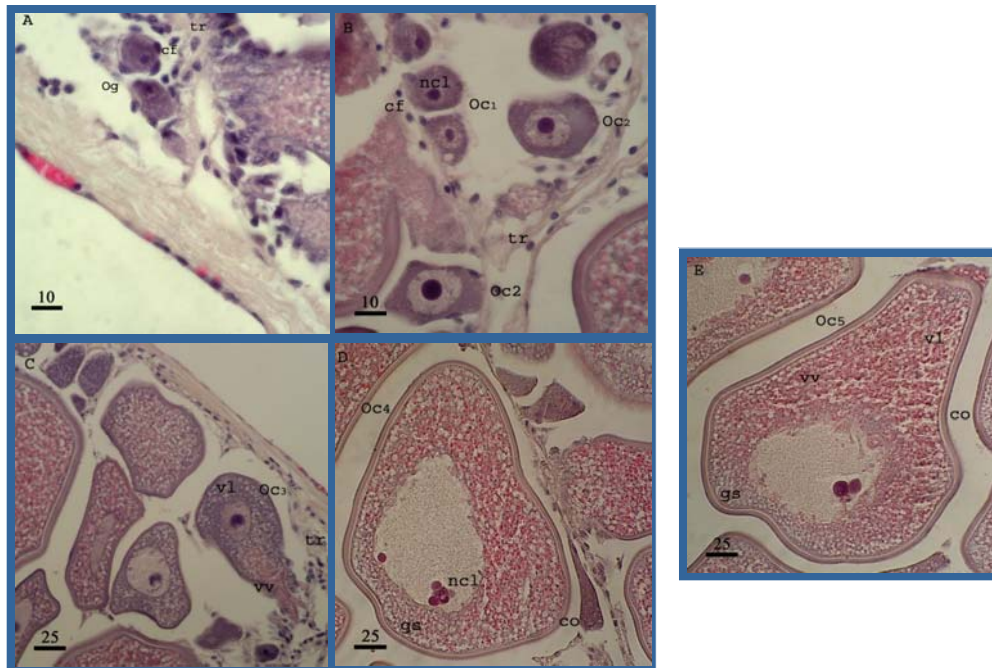


Figura 13. Cortes histológicos de la gónada de *H. tuberculata coccinea* teñidos con hematoxilina y eosina. A) Oogonia (Og) rodeada de células foliculares (cf) y unida a la trabícula (tr). B) Oocito I (Oc1) con células foliculares, aparición del nucléolo (ncl) y membrana nuclear difusa. Oocito II (Oc2) con la membrana nuclear definida. C) Oocito III (Oc3) con vacuolas lipídicas (vl) y aparición de las primeras vacuolas vitelinas (vv). D) Oocito IV (Oc4) formación del corión (co), migración de gránulos secretores (gs) hacia la periferia. E) Oocito V (Oc5) agrupación de vacuolas vitelinas (vv) y lipídicas (vl), la célula se deposita en el lumen de la gónada.

Sexualidad y ciclo reproductivo

Del total de animales muestreados, 207 fueron hembras y 204 machos. La determinación del sexo por observación visual del apéndice conical fue evidente en la mayoría de los casos, exceptuando a los individuos pequeños o en individuos en estado vacío.

Durante todo el periodo de estudio se encontraron gónadas en estado *madurando* y *maduro*, exceptuando el mes de julio. Noviembre mostró la máxima cantidad de individuos en estado *maduro* (60%) para ambos sexos (Fig. 14). Los estados de maduración *parcialmente desovado* y *vacío* aparecieron a lo largo del todo el año, excluyendo a enero, probablemente debido al número reducido de muestras (11 en los dos años de estudio).

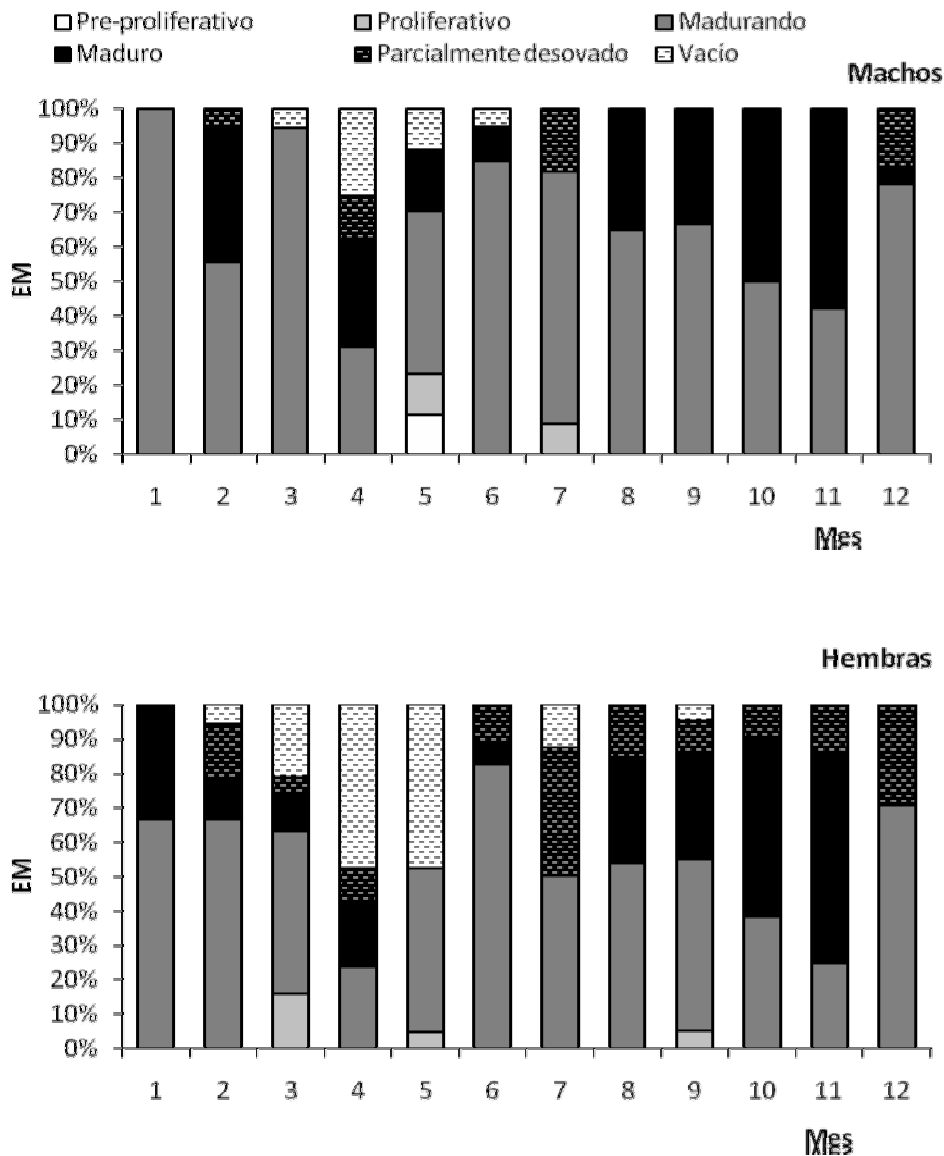


Figura 14: Estados de maduración para machos y hembras.

Las medidas de GBI, en la base del apéndice conical, se muestran en la Fig. 15. Los valores máximos se observaron entre los meses de agosto y febrero. Entre febrero y mayo los valores mostraron una tendencia negativa.

El diámetro de oocitos DO (Fig.16) mostró una tendencia similar a GBI, observándose los máximos valores entre agosto y febrero y los mínimos entre marzo y julio.

Los resultados en los índices gonadosomáticos sugieren un ciclo anual reproductivo, donde los desoves se observan a lo largo del todo el año, aunque la máxima actividad de la población se localiza entre los meses de agosto y febrero.

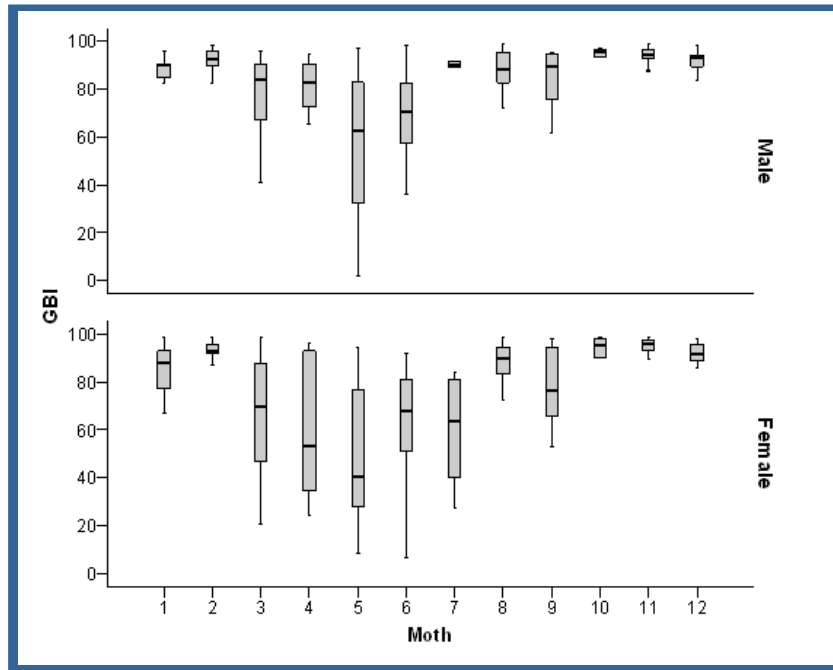


Figura 15. GBI, área de la gónada respecto al área del apéndice conical para machos y hembras.

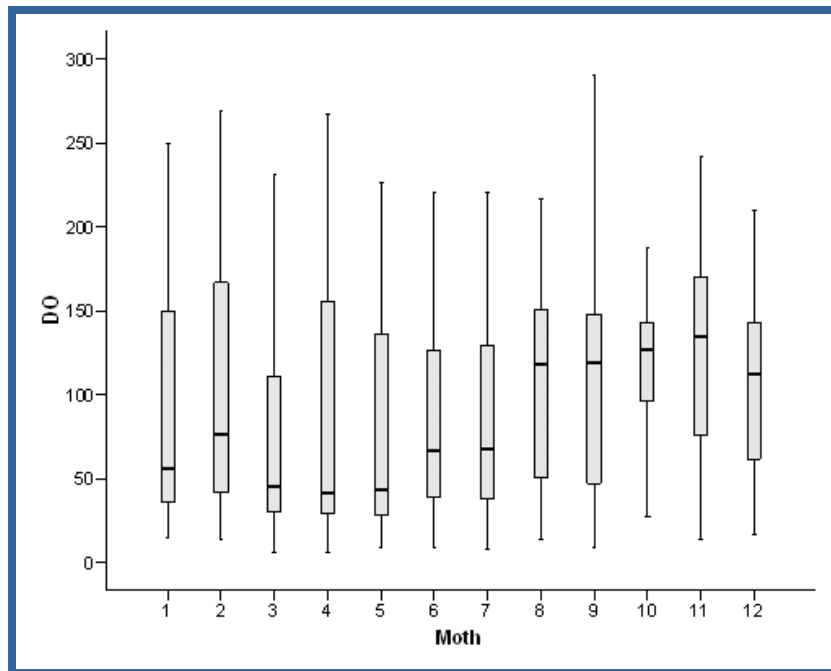


Figura 16. Diámetro de oocitos (DO).

Fecundidad

La frecuencia en el tamaño de oocitos mostró dos poblaciones de oocitos (Fig. 17) indicando un desarrollo ovárico por grupos sincrónicos. Aproximadamente el 78% de oocitos totales se presentó en estado IV o V. La fecundidad varió desde 85.749 (39 mm) a 691.456 oocitos (62 mm) con una media de 391.103 ± 275.257 oocitos. El test de Tukey reveló diferencias significativas ($P < 0,05$) en las medias de fecundidad para el rango mayor de talla (55-64 mm) (Fig. 18). Las relaciones fecundidad respecto a la longitud de la concha y respecto al peso fresco del animal fueron positivas ($r^2 = 0,924$ y $r^2 = 0,869$, respectivamente) (Fig. 19).

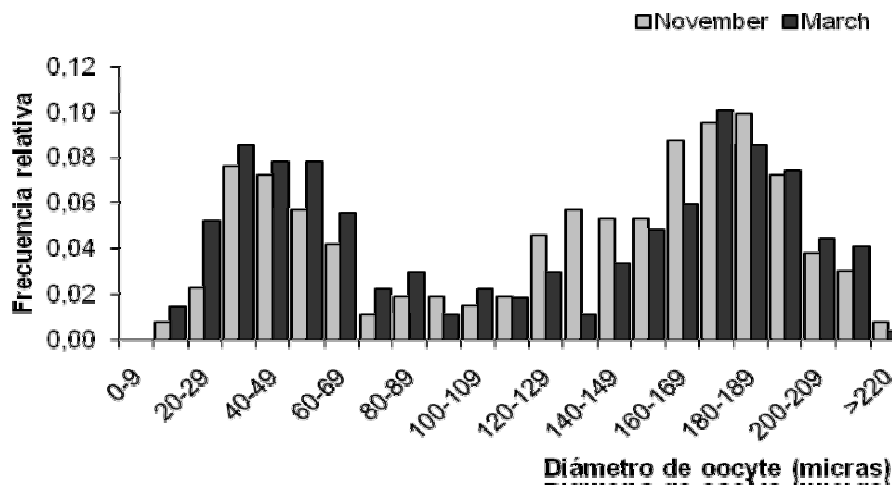


Figura 17. Frecuencia relativa de las diferentes clases de talla de oocitos presentes en gónadas maduras en noviembre y marzo.

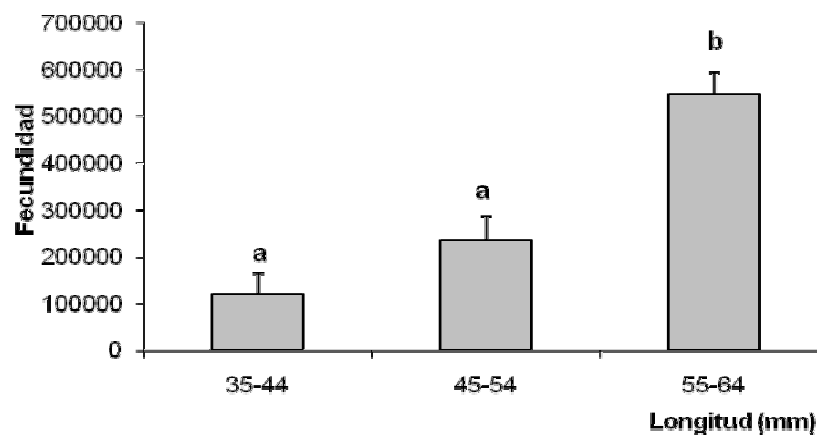


Figura 18. Fecundidad por clase de talla. Las letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

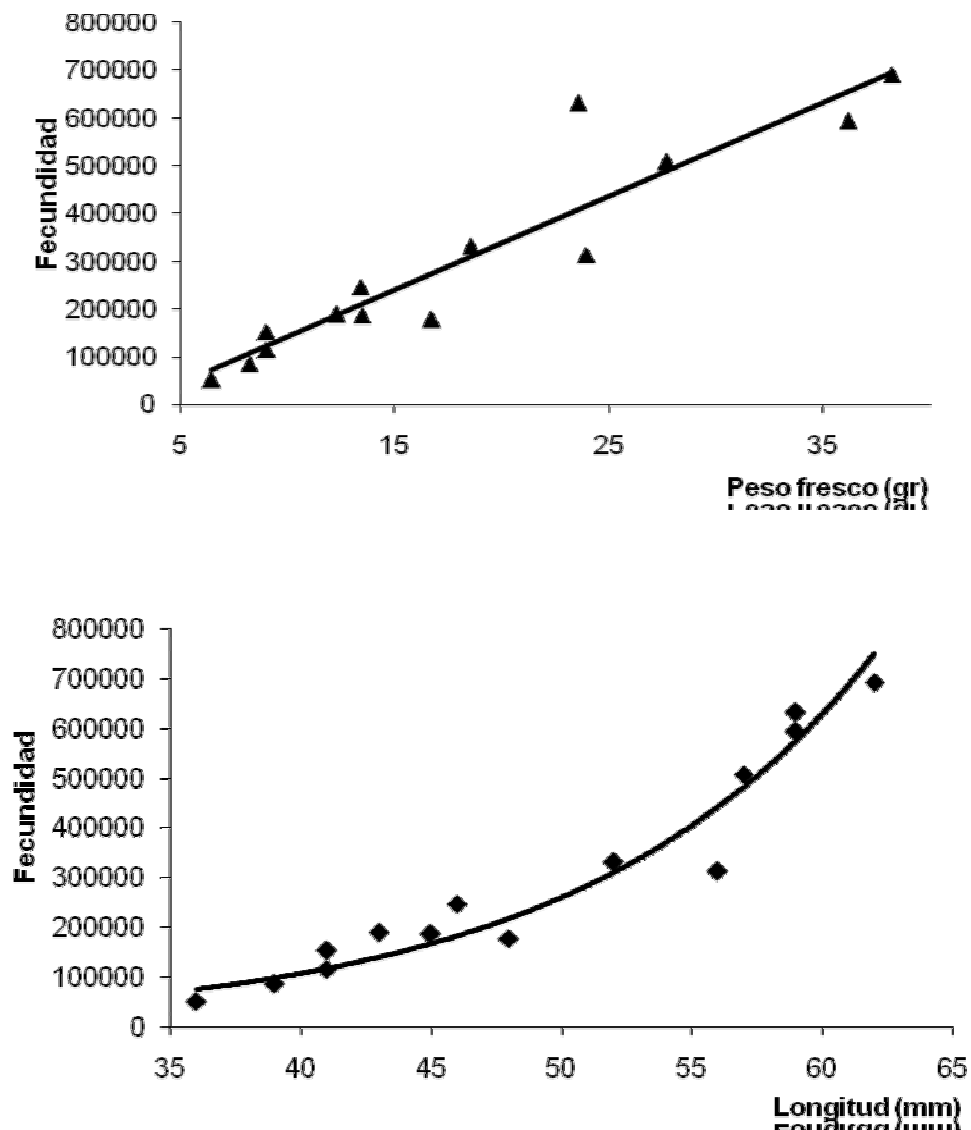


Figura 19. Relaciones fecundidad peso fresco (gr) y longitud (mm). La ecuación para la longitud de la concha es $F = 3187 e^{0.0881 * L}$ ($r^2 = 0.924$) y para el peso fresco del animal $F = 19546 P - 53497$ ($r^2 = 0.8696$). F es la fecundidad, L longitud de la concha y P peso fresco.

Estructura de la población

Las hembras variaron desde 29 a 72 mm y entre 2,87 y 57,85 g y los machos entre 26 y 75 mm y 1,73 y 66,3 g. El test de Student mostró diferencias significativas entre los dos sexos ($P < 0,01$) y el test de Kolmogorov-Smirnov también mostró diferencias en la distribución de tallas ($P < 0,05$) (Fig. 20). El test ANCOVA ($F=5,164$, $P= 0,018$) mostró diferencias significativas en las relaciones talla-peso entre machos y hembras (Figura 21).

El sex-ratio de machos respecto a hembras fue 1:1,02, por lo que se aceptó la relación 1:1 ($\chi^2=0.022$, $P=0.882$). El análisis por clases de talla no reveló ninguna tendencia en los datos.

Crecimiento

Los parámetros de la curva de crecimiento de Von Bertalanffy para hembras y machos fue de 72,5 y 78,8 mm para L_∞ y, 0,43 y 0,37 años⁻¹ para la tasa de crecimiento k , respectivamente. El índice ϕ' resultó similar en ambos sexos, 3,35 en hembras y 3,36 en machos.

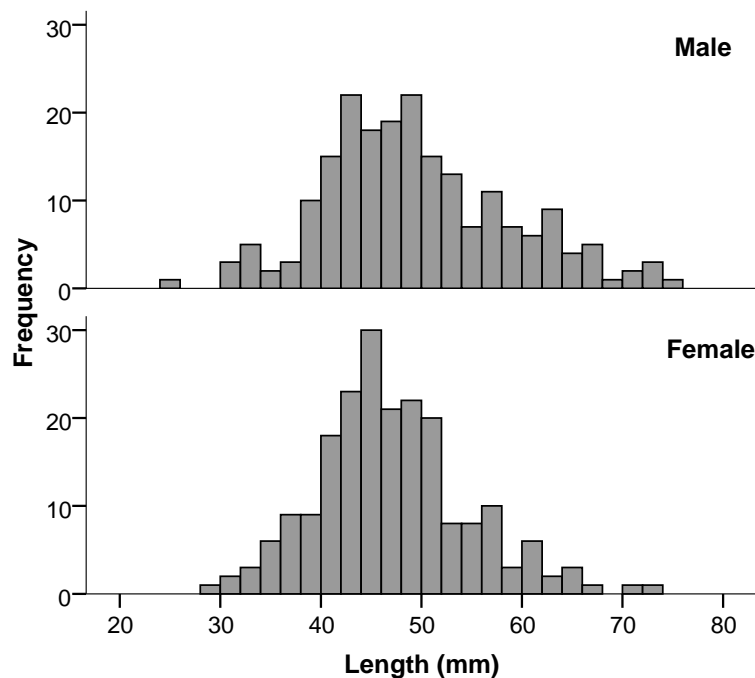


Figura 20. Frecuencia de tallas en el periodo de estudio de la población de *H. tuberculata coccinea* del Castillo del Romeral.

DISCUSIÓN

El control en la reproducción es un aspecto importante en el desarrollo de la acuicultura de nuevas especies. Existen numerosos estudios científicos basados en la morfología de las células sexuales en el proceso oogénico, realizados con el fin de conocer la reproducción de varias especies de abalone (Tomita, 1967; Awaji y Hamano, 2004; Fukuzawa y col., 2007, *H. discus hannai*, Young y DeMartini, 1970; Martin, 1983, *H. rufescens*, Takashima, 1978, *H. diversicolor*, Apisawetakan y col., 2001, *H. asinina* y *H. tuberculata coccinea*, presente estudio). Estos estudios revelan una similar organización de la gónada. El presente estudio, ha mostrado además que el desarrollo ovárico es por grupos sincrónicos, presentándose una cohorte de oocitos grandes y otra de oocitos pequeños como ocurre en otras especies de abalone (Tomita, 1967; Jebreen y

col., 2000; Fukazawa y col., 2007). Este resultado sugiere que los oocitos, en fase vitelogénica, son expulsados bajo condiciones favorables en el ambiente, mientras que la cohorte de oocitos de menor tamaño queda retenida en la gónada hasta el siguiente desove. Respecto al número de desoves a lo largo de un año, el abalone tropical *H. asinina* es capaz de desarrollar tres cohortes de oocitos al año (Jebreen y col., 2000), mientras que *H. discus hannai* desarrolla dos cohortes al año (Fukazawa y col., 2007). En *H. tuberculata coccinea*, los valores altos de GBI y DO observados a lo largo del año, sugieren que los desoves ocurren durante todo el año, por lo que esta especie se puede considerar como desovadora parcial.

El análisis comparativo entre los ciclos reproductivos de *H. tuberculata sp.* sugiere un incremento del periodo de puesta respecto a la latitud. En este sentido, la poblaciones del norte del Canal de la Mancha desovan durante un corto periodo de tiempo, mientras que las poblaciones del sur desovan dos veces o por un periodo más largo (Hayashi, 1980) y en Canarias, el periodo de puesta se extiende a lo largo del año con una máxima actividad de la población durante 6 meses.

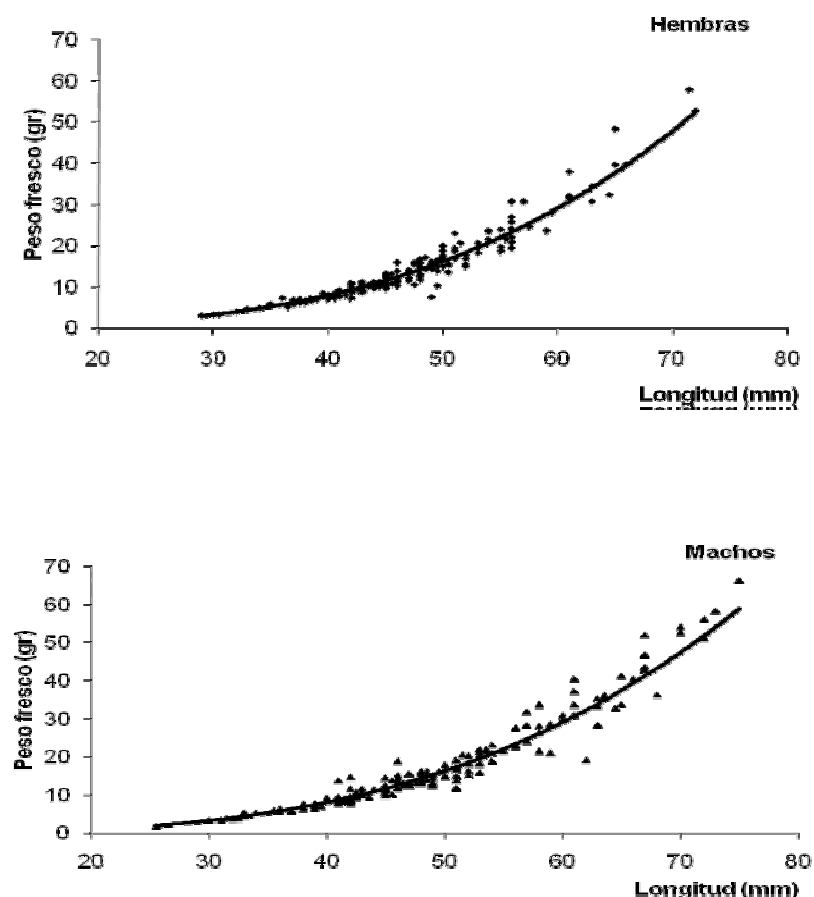


Figura 21. Relaciones talla peso para hembras ($n=207$) y machos ($n=204$). Las ecuaciones son $P = 6.6 \cdot 10^{-5} L^{3.173}$ ($r^2 = 0.959$) para machos y $P = 5.1 \cdot 10^{-5} L^{3.236}$ ($r^2 = 0.953$) para hembras.

El periodo de puesta en *H. tuberculata coccinea* está relacionado con la temperatura, hipótesis acorde con los resultados encontrados por otros autores en otras especies de abalone (Newman, 1967; Girard, 1972; Hayashi, 1980; Uki y Kikuchi, 1984; Counihan y col., 2001). En Canarias, el incremento de la temperatura del agua (Fig. 22) comienza en agosto (>20°C) observándose un desarrollo gonadal en la mayoría de los individuos de la población. Sin embargo, el comportamiento reproductivo el resto del año puede estar relacionado con las mareas vivas, alrededor de las lunas nuevas y llenas (observación personal en condiciones de cultivo). Lo mismo ocurre en la especie tropical, *H. asinina*, donde la ovulación y los desoves en poblaciones silvestres están asociados a las mareas vivas (Jebreen y col., 2000). En cautividad, la influencia de las mareas en los desoves se mantiene de forma endógena (ej. en instalaciones acuícolas) por al menos 6 semanas (Counihan y col., 2001).

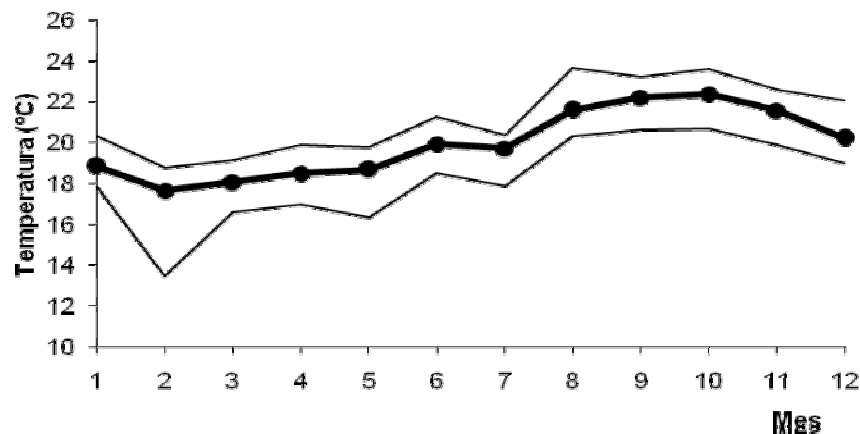


Figura 22. Registro de temperaturas en la Bahía del Castillo del Romeral, Gran Canaria. Los datos fueron cedidos por el Departamento de Oceanografía del ICCM. Se muestran las medias de los dos años, la línea superior indica la temperatura máxima y la inferior la mínima

La comparación de fecundidad entre diferentes especies y estudios es difícil dada las variaciones metodológicas utilizadas en su estimación. Mientras que algunos estudios se basan en inducciones al desove (Peña, 1986; Clavier, 1992), otros autores cultivan animales procedentes de poblaciones silvestres y estiman la fecundidad en desoves espontáneos (Capinpin y col., 1998). Las diferencias también afectan a la metodología utilizada, que varía desde el recuento de huevos desovados, hasta la identificación de oocitos maduros por tamaño o por características morfológicas, calculando la fecundidad por peso o volumen de la gónada (Hayashi, 1980; Tutschulte y Connell, 1981; Rogers-Bennett y col., 2004). La fecundidad en el presente estudio fue superior a la obtenida por Peña (1986) para la misma especie. Este autor llevó a cabo sus experiencias con animales procedentes de Canarias a una temperatura entre 15,3 y 17,5°C, probablemente baja para el completo desarrollo gonadal. Sin embargo la fecundidad estimada de *H. tuberculata coccinea*, en el presente estudio, fue similar a la

encontrada en otras especies de abalone de talla similar, como es el caso de *H. asinina*, 150.000-600.000 huevos (58,1-69 mm) (Capinpin y col., 1998).

Además, se ha encontrado que la fecundidad aumenta con el aumento de tamaño y el peso del animal (Newman, 1967; Hayashi, 1980; Clavier, 1992; Litaay y DeSilva, 2003; presente estudio).

En relación con la estructura de la población, el sex ratio fue similar al encontrado en otras especies de abalone como *H. cracherodii*, *H. rufescens*, *H. midae* (Booolootian y col., 1962; Newman, 1967). El individuo que presentó la máxima talla (75 mm) fue mayor que el encontrado en bibliografía para esta especie (70 mm) (Nuñez y col., 1994) y similar al de otras especies de aguas cálidas como *H. diversicolor supertexta* (Hanh, 1989). Sin embargo, otras especies de interés acuícola como *H. tuberculata*, *H. discus hannai* y *H. rufescens*, alcanzan tallas superiores (120, 200 y 275 mm, respectivamente) (Hanh, 1989). El crecimiento de *H. tuberculata coccinea* en el presente estudio ($k= 0,37-0,43$ años⁻¹) fue similar al encontrado para *H. tuberculata tuberculata* ($k= 0,25-0,45$ años⁻¹) aunque la longitud máxima fue más pequeña ($L_{\infty}= 72,50-78,8$ mm, presente estudio y $L_{\infty}= 99-119$ mm, Day y Fleming, 1992, respectivamente).

Los resultados obtenidos en el presente estudio ayudarán a la producción en cautividad de esta especie con fines repoblacionales o comerciales que contribuirán a su conservación. El hecho de tener animales en estado *maduro* a lo largo de todo el año o en un periodo predecible permitirá a los acuicultores esquematizar las tareas en el criadero (Hanh, 1989). Mientras que la maduración gonadal en especies de aguas cálidas parece responder a los cambios de temperatura (Leighton y col., 1981; Morse, 1984; Hooker y Morse, 1985), sería interesante el estudio de acondicionamiento de reproductores de *H. tuberculata coccinea* durante finales del invierno y primavera incrementando la temperatura del agua de 18 a 22°C. Bajo condiciones naturales, el cultivo de esta especie requiere el acondicionamiento de reproductores durante el final del verano hasta el principio del invierno, con la ventaja de que durante este periodo aparecen la mayoría de individuos en estado *maduro*. Por último, la fecundidad significativamente superior encontrada en animales mayores de 55 mm, sugiere que ésta sería la talla mínima de acondicionamiento en tareas de criadero para optimizar la producción de huevos.

II.1. GALICIA (P₂)

Para caracterizar el ciclo reproductivo de las poblaciones naturales se eligieron inicialmente dos puntos de muestreo, zonas submareales en las Islas Cíes, en la ría de Vigo e Isla de Arousa, en la ría de Arousa. Los muestreos los realizaron mariscadores pertenecientes a las respectivas cofradías mediante buceo en apnea.

Desde febrero de 2006 hasta septiembre de 2008 se recibieron mensualmente muestras recogidas en Cíes. Los muestreos de Isla de Arousa empiezan en enero de 2006, pero son muy irregulares y se interrumpen en mayo de 2007. Se buscó otro punto de muestreo, Fisterra, de febrero a octubre de 2008.

MATERIAL Y MÉTODOS

Poblaciones y ejemplares procesados

En la Tabla XV se indican las características de los especímenes de las muestras, utilizados para los estudios de reproducción, patologías y composición bioquímica.

Tabla XV. Características de los ejemplares muestreados

Población	Nº Ind.	Talla media \pm SD	Peso medio \pm SD
Cíes	581	81,2 \pm 9,7	80 \pm 30,5
Illa de Arousa	222	86,4 \pm 14,1	95,7 \pm 44
Fístera	180	83 \pm 8,4	78,1 \pm 25,4

De cada muestra de 20 ejemplares se tomaron los siguientes datos biométricos: longitud, anchura, peso total, peso de la concha, peso de vianda y peso del apéndice cónico.

Estudio histopatológico y reproductivo.- En todos los ejemplares se tomó un corte transversal del apéndice cónico y un trozo de branquia y manto para su procesado por técnicas histológicas, realizando la fijación en Davidson durante 24 horas y tinción con hematoxilina-eosina. Estas preparaciones se utilizaron para la observación del desarrollo gonadal y las patologías.

Análisis bioquímico

El músculo aductor y el apéndice cónico de ocho individuos de cada muestreo (cuatro machos y cuatro hembras) se liofilizaron para su análisis bioquímico. El procedimiento seguido fue la congelación de las muestras a - 80°C durante un mínimo de 24 horas (en el caso del músculo previamente se trocea y machaca en mortero) y liofilización durante 48 horas, pasando otra vez la muestra por el mortero hasta conseguir un polvo homogéneo. Las muestras utilizadas para el análisis bioquímico son una mezcla de músculo o apéndice cónico de tres individuos del mismo sexo.

Para la determinación de lípidos totales, se emplea un método gravimétrico, previa extracción de los lípidos por el método de Folch. El análisis de proteínas se realiza a partir del método modificado de Lowry, basado en los resultados de Bensadoun y Weinstein y Hess y col. La recta de calibrado se realiza utilizando como estándar la seroalbúmina bovina (Sigma®) en un rango de concentraciones de 5 a 30 μ g. La lectura en espectrofotómetro se realiza a una longitud de onda de 750 nm. Para determinar carbohidratos se emplea el método de Dreywood. Es un método

En Cíes, los máximos del índice de condición gonadal (ICG) se observan en el mes de mayo en los años 2006 y 2007 y en junio en 2008 (Figura 23). En los dos primeros años, el ICG empieza a descender en julio hasta alcanzar el mínimo valor en octubre y noviembre, respectivamente. Durante el invierno presenta valores bajos, empezando a aumentar a partir del mes de marzo.

Los muestreos en Illa de Arousa fueron muy irregulares (Figura 24), aunque se puede observar que el ICG desciende entre septiembre y noviembre de 2006, se mantiene en valores bajos durante el invierno y empieza a aumentar a partir de marzo.

En Fisterra no llegó a completarse un ciclo de muestreos de un año. Desde febrero va aumentando el ICG, alcanzando el máximo en junio para descender el siguiente mes.

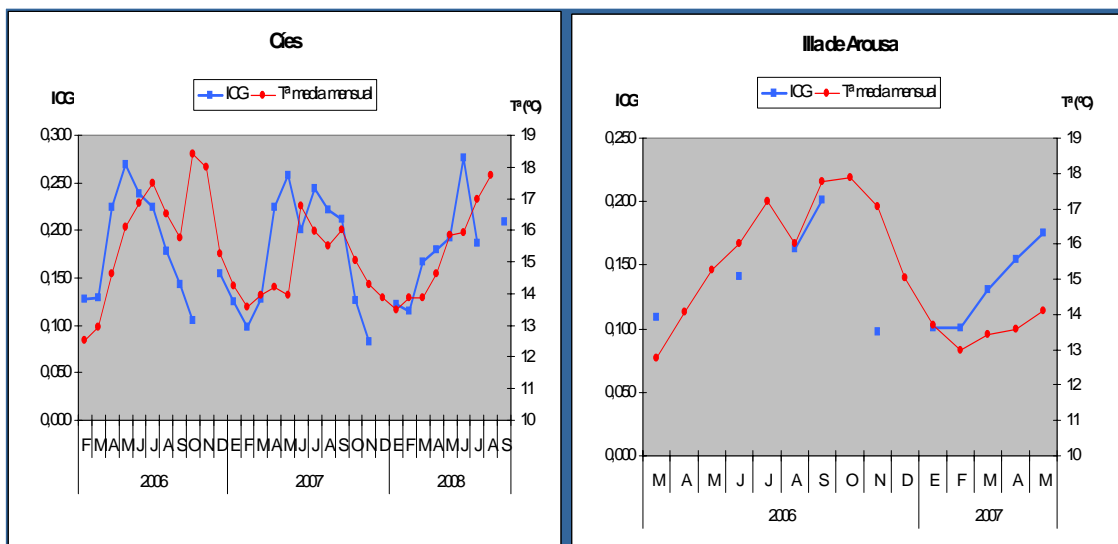


Figura 25. Evolución de los ICG en Islas Cíes e Isla de Arousa y temperaturas del agua en las zonas de muestreo

En Cíes e Illa de Arousa existe un registro semanal de temperatura del agua, salinidad y oxígeno disuelto realizado por el INTECMAR. Se utilizaron los datos de la temperatura entre 0 y 5 metros de profundidad y se superpusieron a los del índice de condición gonadal. Se observa que ambos registros evolucionan de forma similar, coincidiendo los mayores niveles de ICG con los meses de mayor temperatura del agua.

Los datos de salinidad (‰) y oxígeno (mg/l) son también los correspondientes a una profundidad entre 0 y 5 m.

Teniendo en cuenta el periodo en el que se realizaron muestreos en cada uno de los puntos, la salinidad media en Cíes es de 34,96 ‰, con un mínimo de 30,91‰ y máximo de 36,03‰. En Illa de Arousa la media es de 33,80‰, con un mínimo de 21,22‰ y un máximo de 35,91‰.

La media de oxígeno disuelto en Cíes es de 5,51 mg/l, con un mínimo de 3,26 mg/l y máximo de 8,29 mg/l. En Illa de Arousa la media es de 4,95 mg/l, el mínimo 3,03 mg/l y el máximo 7,25 mg/l.

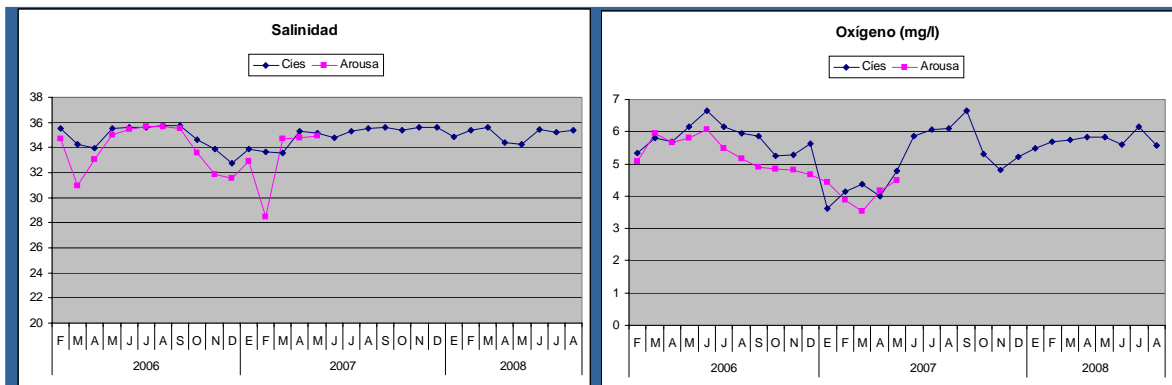


Figura 26. Registros de salinidad y oxígeno en las zonas de muestreo. Los datos corresponden a la media mensual de ambos parámetros

Desarrollo gonadal en preparaciones histológicas

Los diferentes estados de maduración de la gónada se determinaron observando cortes histológicos (20 ejemplares por muestreo). Se utilizó como referencia la escala descrita por Sobhon y col. (1999) para *Haliotis asinina*, basada en las de Tomita, Lee, Giorgi & DeMartini y Ault para otras especies de *Haliotis*. Se definieron cinco fases en el ciclo gonadal:

Fase I: *Proliferativa*. Se caracteriza por la presencia de células sexuales en estados iniciales de desarrollo. En las hembras se observan oogonias y oocitos en estados 1 y 2 y en los machos espermatogonias y espermatoцитos primarios.

Fase II: *Premadura*. Es un periodo de gran aumento en número y talla de las células sexuales. En hembras se observan oogonias y oocitos en estados 1, 2, 3 y 4; en machos, espermatogonias, espermatoцитos y algunas espermátidas y espermatozoides.

Fase III: *Madura*. En hembras aparecen sobre todo oocitos en estado 5, en los machos espermátidas y espermatozoides.

Fase IV: *Desove*. Es el periodo en el que se empiezan a liberar los gametos maduros.

Se consideraron en esta fase los individuos a partir de que se empiezan a observar huecos en algunas zonas de la gónada.

Fase V: *Agotamiento*. Se caracteriza por la casi total ausencia de gametos maduros, que ya se han liberado.

FASES DE DESARROLLO GONADAL

HEMBRAS

MACHOS

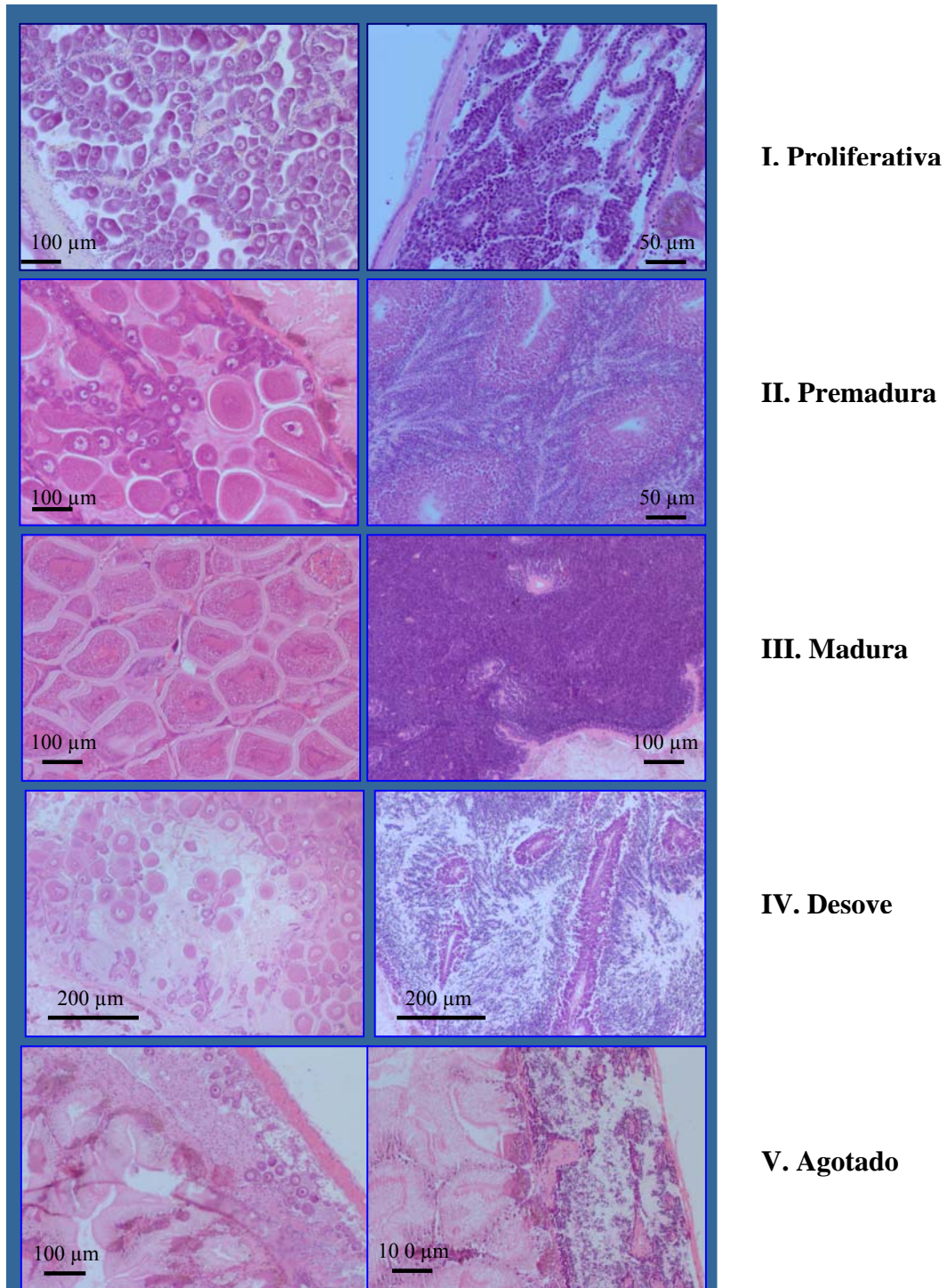


Figura 27. Fases de desarrollo gonadal, en base a preparaciones histológicas y según escala descrita por Sobhon y col. (1999).

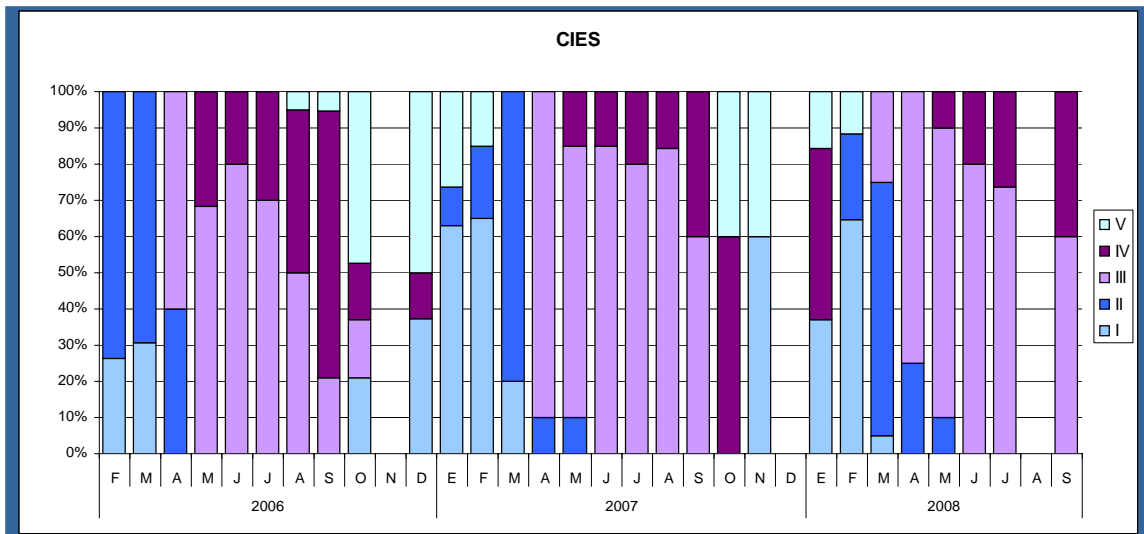


Figura 28. Evolución del desarrollo gonadal en las poblaciones de Islas Cies (Ría de Vigo)

En Cíes empiezan a observarse en primavera individuos en fase de madurez (III), en abril en los años 2006 y 2007 y alguno en marzo de 2008. A partir de mayo, en estos tres años, aparecen algunos individuos en fase de desove parcial (IV). Durante el verano se encuentran ambas fases. En septiembre (2006) y octubre (2007) es cuando se encuentra ya algún individuo que ha liberado los gametos y presenta la gónada casi vacía y más reducida (fase V), su proporción aumenta en octubre. En otoño, estos individuos que ya han desovado, conviven con otros en fase proliferativa (I) que se observan durante todo el invierno. A partir de enero o febrero aparecen individuos en fase premadura (II).

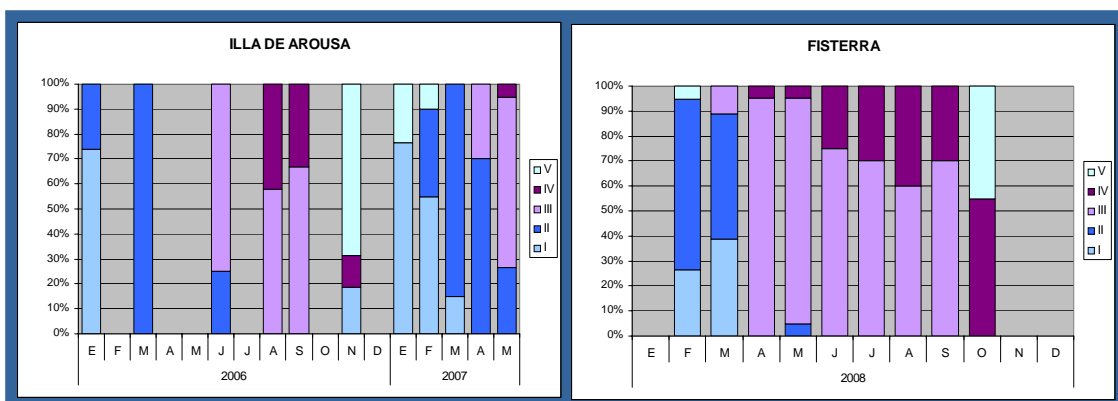


Figura 29. Fases de desarrollo gonadal en las poblaciones de Isla de Arousa y Fisterra.

Aunque los muestreos en Illa de Arousa son muy discontinuos, se observa que también empiezan a aparecer individuos en fase madura (III) en primavera y ésta es la

fase que predomina durante el verano, cuando también se encuentran individuos en fase de desove parcial (IV). La mayor proporción de individuos que ya han desovado se observa en noviembre. En esa época otros individuos están en fase proliferativa (I). Durante el invierno predominan las fases proliferativa y premadura.

En Fisterra, en febrero y marzo aparecen sobre todo individuos en fase proliferativa (I) o premadura (II). De abril a septiembre predominan los individuos en fase madura (III). En abril se empieza a observar algún individuo en fase de desove parcial (IV), aumentando su proporción en los meses de verano. En octubre todos los individuos muestreados se encontraban en fase de desove parcial (IV) o ya habían desovado (V).

Sex-ratio

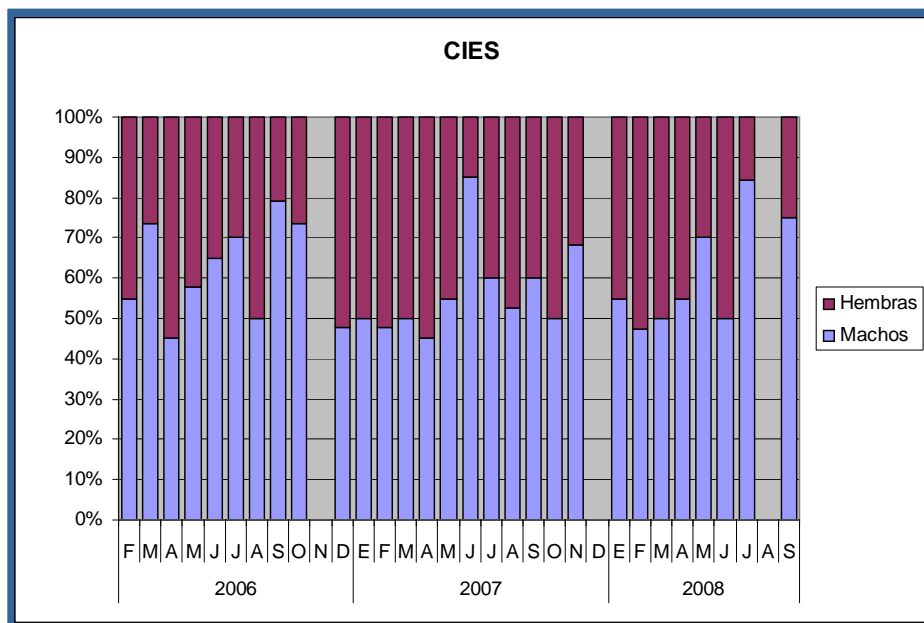


Figura 30. Sex-ratio en las poblaciones de Islas Cies (Ría de Vigo)

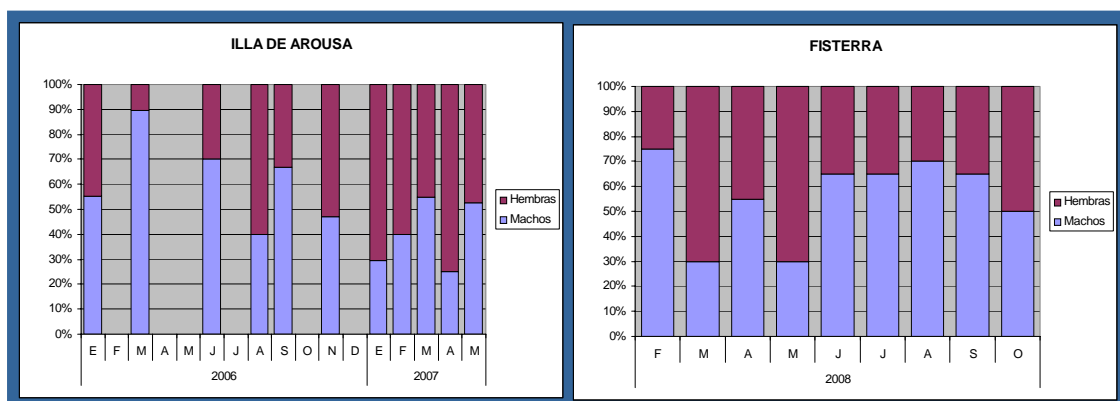


Figura 31. Sex-ratio en las poblaciones de Isla de Arousa y Fisterra.

La proporción total machos: hembras en cada uno de los puntos de muestreo es la siguiente: Cíes- 1,45 M: 1 H, Illa de Arousa- 1,06 M : 1 H y Fisterra: 1,28 M : 1 H. Estas proporciones se ajustan a las determinadas en estudios anteriores en poblaciones similares (JACUMAR, 2005).

Composición bioquímica

Se realizaron estos análisis en muestras procedentes de Cíes en los períodos que se indican. Los resultados se indican en la figura 32.

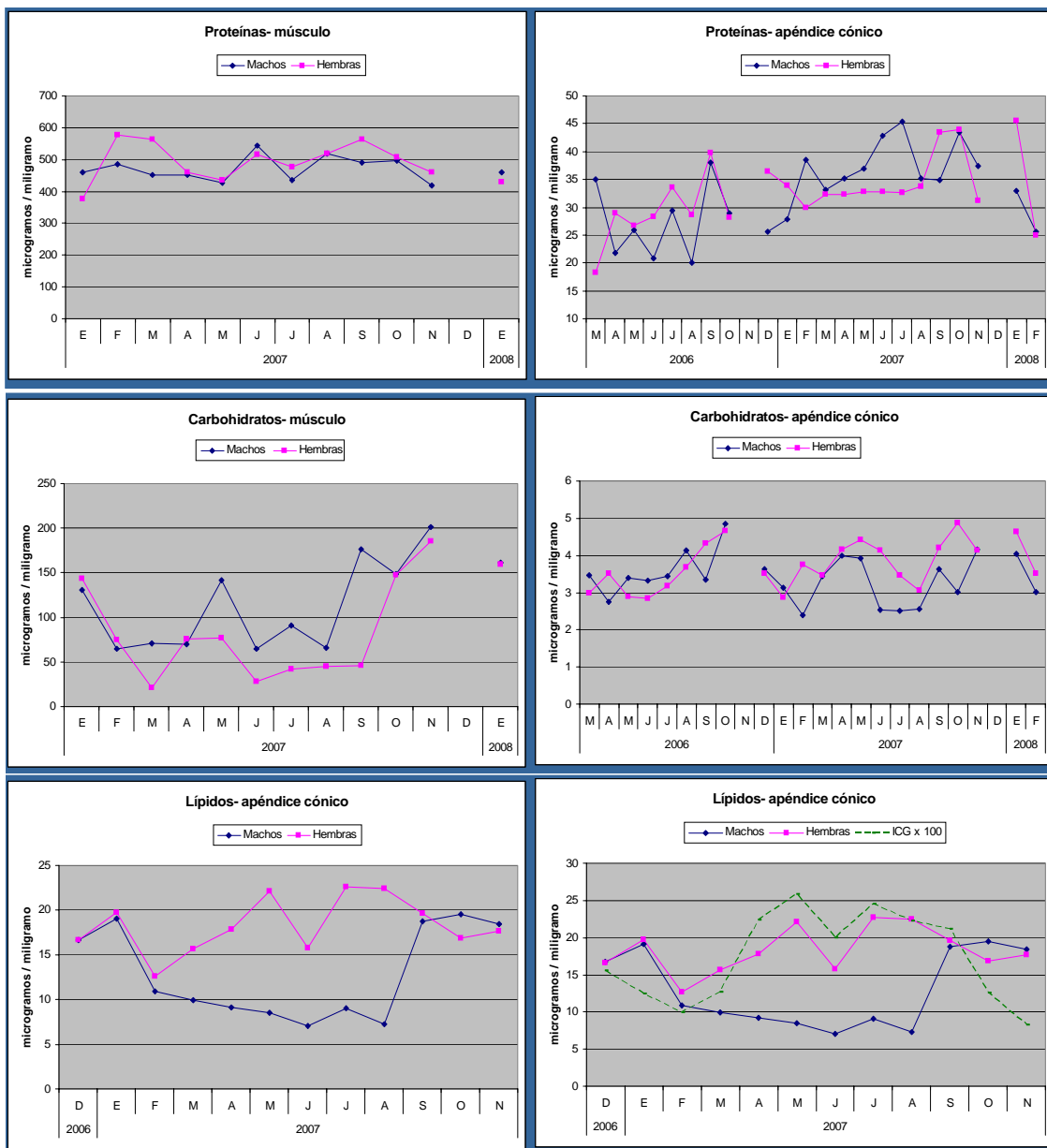


Figura 32. Composición bioquímica en músculo y apandice cónico en las poblaciones de Islas Cies (Ría de Vigo). En la figura inferior de la derecha (lípidos en apéndice cónico), se incluye la evolución del ICG.

Se observan evoluciones similares del ICG con el contenido en lípidos del apéndice cónico en las hembras.

CONCLUSIONES

La mayor información sobre el desarrollo del ciclo gonadal de poblaciones naturales de *Haliotis tuberculata* se obtuvo en Cíes, donde se realizaron muestreos mensuales desde febrero de 2006 hasta septiembre de 2008. En este periodo, con ligeras variaciones posiblemente asociadas a condiciones ambientales, se repite un patrón de desarrollo gonadal.

El índice de condición gonadal (ICG) presenta los valores inferiores durante el invierno, aumenta en el mes de abril en 2006 y en marzo en 2007 y 2008, alcanzando los valores más altos en mayo durante los dos primeros años y en junio en 2008. En 2007 se observa una disminución del ICG en junio y aumento en julio, lo que puede deberse a un desove parcial, disminuyendo a partir de ese mes hasta noviembre.

En las preparaciones histológicas se observan individuos en fase de madurez en abril de 2006 y 2007 y en marzo de 2008. A partir de mayo, durante los tres años, aparecen individuos que empiezan a liberar gametos, presentando huecos en algunas zonas de la gónada. Es en octubre, cuando entre un 50% y un 60% de los individuos han liberado ya la mayor parte de los gametos, presentando la gónada más reducida.

Estos resultados sugieren que la liberación de gametos comienza en primavera en algunos individuos, continúa durante el verano y es mayoritaria en otoño. En esta época se observan ya individuos en fase proliferativa.

El ICG muestra una correlación con la temperatura del agua, siendo mayor en los meses en los que ésta aumenta y menor, indicando un desove, cuando descende.

II.1. ASTURIAS (P₃)

Con el fin de proponer épocas de veda, si se explotan poblaciones naturales, o plantearse un cultivo en criadero, bien sea para repoblar o para el engorde comercial, se hace necesario definir el ciclo de la especie en la zona geográfica en la que se encuentra.

En esta tarea se estudia la gametogénesis, la frecuencia de desoves y período/s de puesta/s a lo largo de dos ciclos anuales. Aunque las orejas de mar pueden presentar algunos casos de hermafroditismo, son especies dioicas, de sexos separados, diferenciando los machos de las hembras por el color de sus gónadas, cuando están sexualmente maduras.

Para realizar el estudio del ciclo gametogénico se muestrearon dos poblaciones naturales: el puerto de Tapia de Casariego, en el occidente asturiano, y la playa de Poniente, en Gijón. Estas localidades distan 110 kilómetros la una de la otra. El periodo de estudio comprende desde el mes de marzo del 2006 hasta el mes de diciembre del 2007. Se recogieron, mensualmente y en ambas zonas, diez individuos adultos, 5 machos y 5 hembras, cuya talla estaba siempre comprendida entre los 50 y 70 mm. Éstos 10 individuos fueron procesados para la histología.

En los individuos recogidos en ambas localidades durante los muestreos se tomaron las siguientes medidas: longitud, anchura, peso fresco total, peso fresco concha y peso fresco vianda.

Tabla XVI. Parámetros biométricos de H. tuberculata en Gijón. Año: 2006

Meses	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Peso Total (g)	Peso Vianda (g)	Peso Valva fresco (g)
Marzo	62,35	41,26	34,01	21,35	9,30
Abril	58,45	39,05	29,19	19,46	8,42
Mayo	52,49	34,20	17,28	11,61	4,89
Junio	55,96	36,25	19,72	14,26	5,28
Julio	59,23	38,58	23,59	16,12	7,13
Agosto	63,39	40,27	30,07	19,59	10,04
Septiembre	63,80	41,75	29,66	17,30	11,08
Octubre	63,10	40,88	24,49	13,56	10,77

Tabla XVII. Parámetros biométricos de H.tuberculata en Tapia. Año: 2006

Meses	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Peso Total (g)	Peso Vianda (g)	Peso Valva Seco (g)
Marzo.2006	58,60	36,96	27,34	18,83	5,75
Abril	58,63	37,82	26,42	19,82	6,41
Mayo	62,56	40,88	31,97	22,71	7,10
Junio	61,91	40,49	28,63	21,35	7,07
Julio	56,11	35,07	21,72	13,41	5,49
Agosto	64,16	40,17	30,25	19,88	8,68
Septiembre	65,58	42,23	28,62	19,20	8,85
Octubre	66,38	42,71	32,94	22,50	9,53

Tabla XVIII. Parámetros biométricos de H.tuberculata en Gijón .Año: 2007

Meses	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Peso Total (g)	Peso Vianda (g)	Peso Valva fresco (g)
Enero	64.79	41.50	31.67	17.75	12.61
febrero	-	-	-	-	-
Marzo	63.18	41.76	31.55	19.60	10.73
Abril	61.43	39.63	28.84	18.35	9.08
Mayo	65.34	42.82	35.19	19.72	13.44
Junio	68.44	46.33	38.23	21.73	14.00
Julio	63.30	41.82	32.03	18.69	11.00
Agosto	64.81	43.81	35.18	20.66	12.46
Septiembre	65.50	43.07	35.31	21.79	12.76
Octubre	69.46	45.60	40.49	20.83	16.95
Noviembre	65.51	42.54	33.69	19.39	13.00

Tabla XIX. Parámetros biométricos de H.tuberculata en Tapia. Año: 2007

Meses	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Peso Total (g)	Peso Vianda (g)	Peso Valva Seco (g)
Enero	-	-	-	-	-
Febrero	62.58	40.29	33.45	20.78	8.41
Marzo	62.15	40.20	31.38	22.64	7.86
Abril	67.18	42.13	37.58	26.94	8.87
Mayo	65.25	41.90	37.38	26.32	9.33
Junio	56.24	35.45	24.30	16.93	5.72
Julio	61.76	39.88	29.64	18.68	8.77
Agosto	64.49	40.93	29.09	20.15	8.60
Septiembre	63.84	40.77	29.57	20.03	8.87
Octubre	65.22	42.76	35.25	23.10	10.51
Noviembre	63.14	40.54	31.29	20.48	9.29

Para el estudio de la secuencia del ciclo gonadal se hizo un estudio microscópico de la gónada; ésta se sitúa en el cono hepatogonadal, recubriendo el hepatopáncreas. Se procedió seccionando la porción media del cono, de aproximadamente 1cm³.

Las preparaciones histológicas se realizaron mediante la fijación en Davidson y tinción con Hematoxilina-Eosina:

Para determinar el estado de maduración sexual de la gónada, se utilizó la escala empleada por Gaspar (1996) modificada, que distingue los siguientes estados de maduración:

Estado 0 – Reposo sexual: Células germinales escasas y gametos residuales inexistentes. *Estado I* – Gametogénesis inicial: Folículos pequeños. Las hembras presentan ovocitos en las fases iniciales de desarrollo incrustados en las paredes de los folículos. En los machos se observan espermatogonias en las paredes de los folículos, que por división originan espermatoцитos primarios, espermatoцитos secundarios y espermatozoides agrupados en disposición radial.

Estado II – Gametogénesis avanzada: El tamaño de los folículos aumenta. En los machos los espermatozoides se colocan en el folículo orientados hacia el centro. En las hembras la mayoría de los ovocitos se encuentran pegados al folículo por un fino pedúnculo y el resto se encuentran libres en el lumen, presentando estos contornos poligonales porque la ovogénesis todavía no ha terminado.

Estado III – Madurez: La gónada alcanza su máximo desarrollo. El tejido conjuntivo ha sido sustituido por folículos repletos de gametos. En las hembras, los ovocitos tienen forma esférica y poligonal. Los machos presentan espermatozoides desorganizados y libres en el lumen.

Estado IV – Desove: En las fases iniciales de la puesta se observan folículos completamente vacíos y otros todavía con células sexuales maduras. El tejido conjuntivo se va restaurando como consecuencia de la disminución del diámetro de los folículos. *Estado V* – Post-desove: Abundancia de tejido conjuntivo y presencia de algunos óvulos y espermatozoides residuales aislados que sufrirán lisis.

RESULTADOS

Los resultados de los análisis histológicos realizados durante los 2 años, muestran que a lo largo del ciclo reproductivo se aprecia que la evolución de la gónada es similar en machos y en hembras, por lo que los datos obtenidos fueron tratados en conjunto.

En el 2006, mes de marzo, la mitad de la población se encuentra en el estadio de inicio de la gametogénesis y la otra mitad en gametogénesis avanzada, siendo similar para las poblaciones de Tapia y Gijón. Ambas poblaciones llegan al mes de mayo con la gónada madura, el 100% de los individuos se encuentran en este estadio.

El desove comienza en junio en ambas localidades y se extiende hasta noviembre en Tapia y hasta octubre en Gijón. Posteriormente la población entra en el estadio de post-desove y en diciembre en Tapia y en noviembre en Gijón, gran parte de los ejemplares se encuentran en reposo.

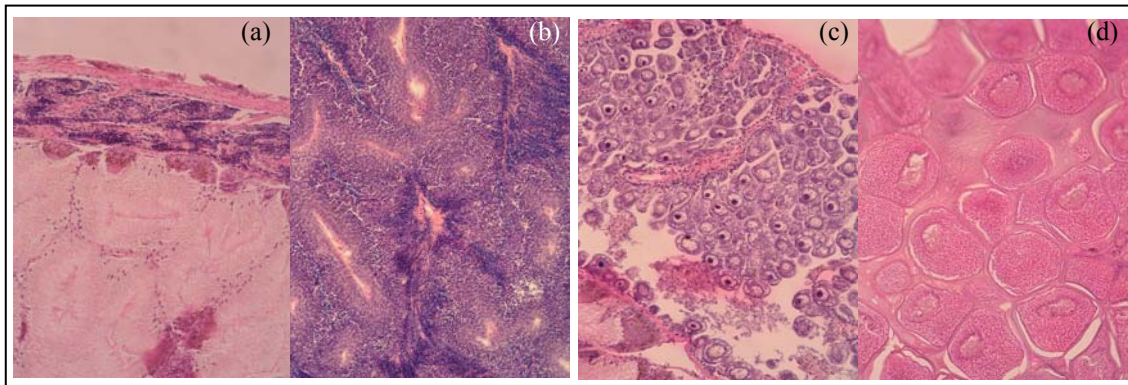
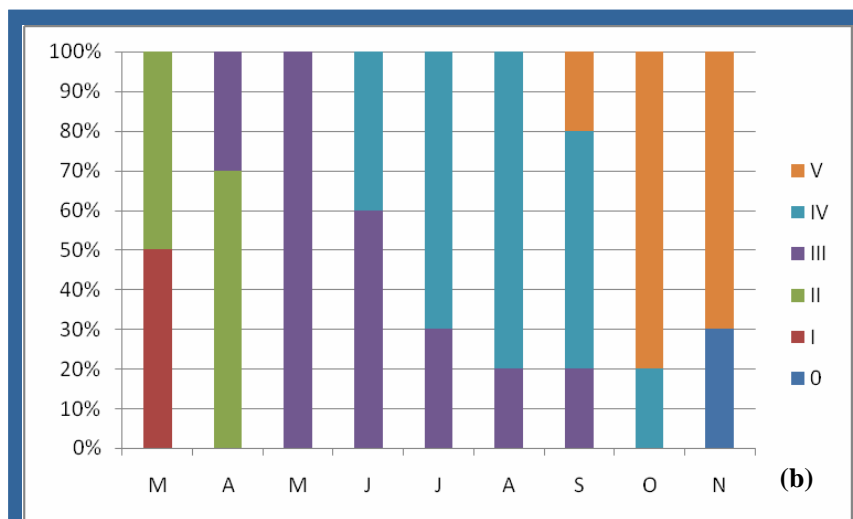
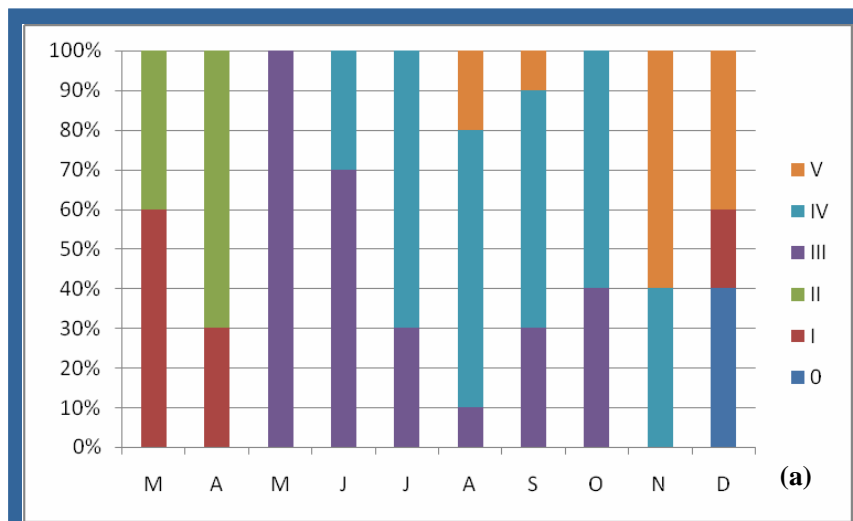


Figura 33. Micrografías de gónada: Macho en estadio de inicio de la gametogénesis (a) y estadio de madurez (b); hembra en estadio de inicio de la gametogénesis (c) y en madurez (d)

Tablas XX y XXI. Estadios de desarrollo gonadal de *H. tubercula* en Tapia (a) y Gijón (b) 2006

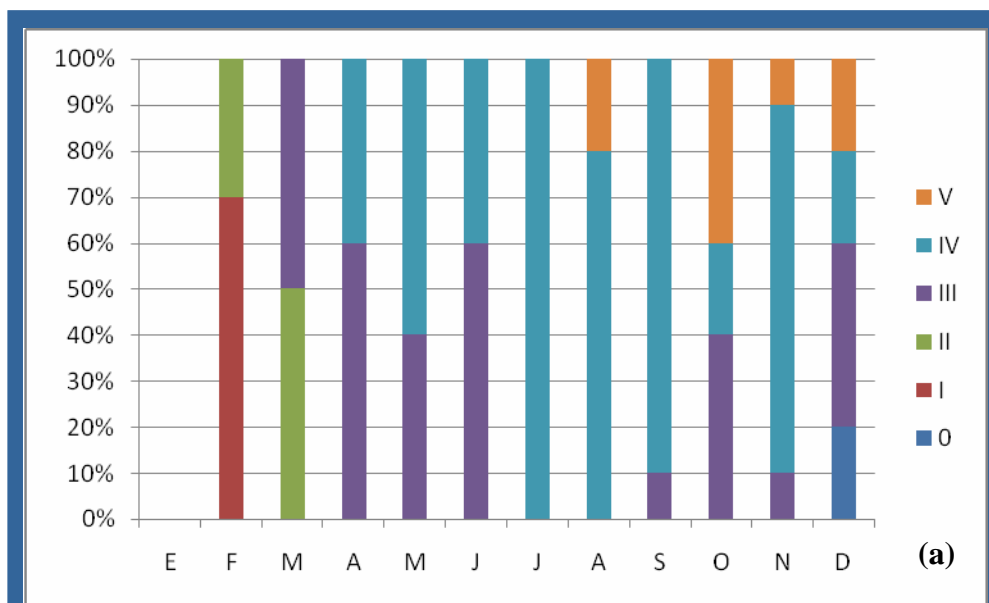


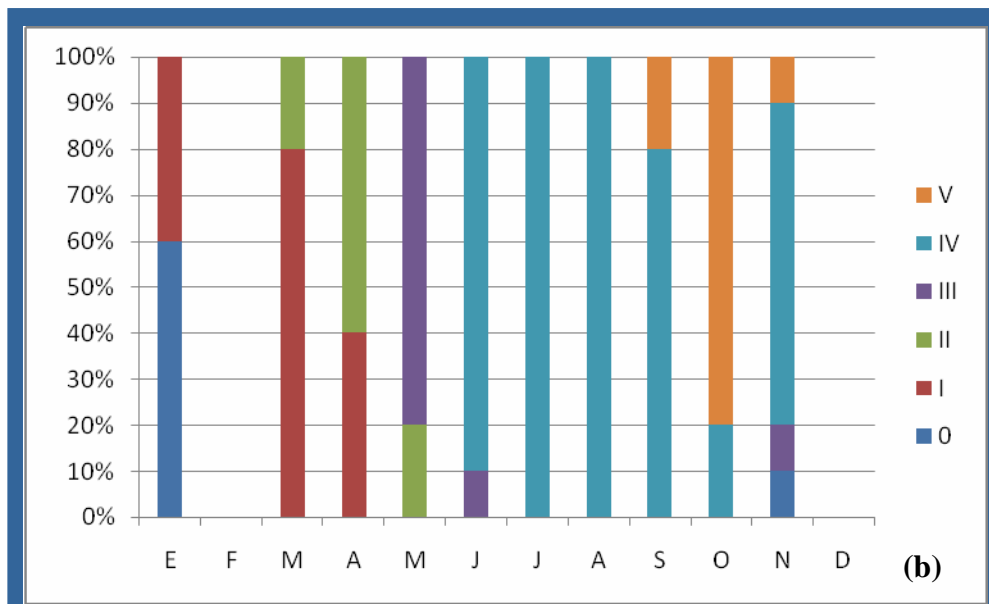
En el 2007, debido a las condiciones climatológicas adversas, en el mes de enero en Tapia y en los meses de febrero y diciembre en Gijón, no se pudieron realizar los muestreos oportunos.

En la población asentada en el puerto de Tapia, en el occidente de Asturias, observamos que en el mes de febrero la mayor parte de los ejemplares se encuentran en estado de inicio de la gametogénesis. El resto de la población, un 30%, se encuentra en gametogénesis avanzada. En el mes de marzo la mitad de la población llega a la madurez sexual. En abril comienzan los desoves, siendo en julio, agosto y septiembre los meses de mayor actividad sexual. En octubre se encuentran ejemplares en estado de postdesove, alternándose con otros desovando y otros maduros. En noviembre se produce una restauración de la gónada, ocurriendo desoves en el 80% de la población. En diciembre existe una disparidad en cuanto al grado de desarrollo sexual, apareciendo individuos en reposo sexual, maduros, desovando y en estado de postdesove.

La población asentada en Gijón, en el centro de Asturias, presenta un retraso en cuanto al desarrollo de sus gametos con respecto a la población de Tapia. En enero la mayor parte de la población se encuentra en reposo, existiendo otra parte que inicia la gametogénesis, estado en el que se encuentran en marzo. En abril la mayoría se encuentran en gametogénesis avanzada, en mayo están maduros y en junio comienzan los desoves que se extienden hasta septiembre. En octubre la mayor parte de la población se encuentra en estado de postdesove y en el mes de noviembre parece ser que se produce una restauración gonadal que permitiría otra puesta masiva de la población.

*Tablas XXII y XXIII. Estadios de desarrollo gonadal de *Haliotis tubercula* en Tapia (a) y Gijón (b). 2007*





CONCLUSIONES

Los resultados indican la existencia de un ciclo reproductor anual en donde la liberación de gametos comienza en junio, en ambas poblaciones, salvo en la zona de Tapia, que en el 2007 se adelanta al mes de abril. El desove se prolonga durante todo el verano hasta el mes de octubre, observando, en ambas poblaciones, una restauración de la gónada en el mes de noviembre, lo que permitiría una segunda puesta a finales de año.

Estos datos son similares a los encontrados por Lastres *et al* (1997) en la población natural de oreja de mar en la Isla de Arosa (Galicia) y también con lo descrito por Hayashi (1980) en poblaciones de Guernsey (Canal de la Mancha).

De esta forma, se observa que el desarrollo gonadal guarda relación directa con los factores ambientales, siendo la temperatura y la disponibilidad de alimento los más importantes, de manera que si se dan las condiciones adecuadas, la población puede estar desovando y restaurando la gónada constantemente. Esto explica la restauración gonadal que se produce en ambas localidades en el mes de noviembre, que permite desovar a la mayor parte de la población.

TAREA II.2. Adaptación de ejemplares en diversos sistemas de cultivo

II.2.1. Montaje del sistema para el acondicionamiento de reproductores (P₁, P₂, P₃)

CANARIAS (P₁)

En el año 2006, al inicio del proyecto, y para las necesidades del mismo, fue necesario proceder a la reforma del antiguo cuarto de producción de fitoplancton para transformarlo en cuarto de estabulación de reproductores y en sala de producción larvaria.



Figura 34. Antinguo cuarto de producción de fitoplcnacton

A continuación se describen las reformas efectuadas, así como el sistema de estabulación de reproductores y de cultivo larvario diseñado y construido por el Grupo de Investigación en Acuicultura en el ICCM.

Con estos sistemas, en circuito abierto, se pretende conseguir tener un sistema con buena calidad de agua y futuros módulos de regulación térmica para el cultivo de abalones. Estos sistemas forman parte de un conjunto de instalaciones más amplias destinadas al cultivo de oreja de mar.

El GIA cuenta con una sala para el acondicionamiento de reproductores y el cultivo larvario de *Haliotis*, con una superficie aproximada de 40m². El sistema de acondicionamiento de reproductores consiste en veinticuatro tanques rectangulares, de 600 x 400 x 319mm (60l), con un doble fondo perforado para una mejor separación de las heces y desechos de los especimenes y para facilitar las labores de limpieza de tanques. El fondo esta cubierto por tejas de PVC que proporcionan a los individuos un adecuado refugio y protección de la luz. Los tanques están dispuestos en una estantería de dos alturas para adecuarse al espacio disponible de la sala

El agua entra sin filtrar a través de una tubería de tipo sanitario de PVC de 40 mm de diámetro y esta distribuida en cada tanque, por arriba, a través de una entrada de agua de polipropileno de 10mm de diámetro regulada con una llave.

El nivel de agua se controla con un tubo de nivel exterior al tanque y el desagüe de todos los tanques se realiza por debajo a través de una canaleta general.

Cada uno de los tanques consta de un aireador de piedra porosa conectado a una tubería flexible de polietileno de 6 mm de diámetro, a su vez conectada a una tubería general de polietileno de 32 mm de diámetro. El sistema de aireación dispone de llaves de plástico que permiten regular el flujo.

El agua entra sin filtrar a través de una tubería de tipo sanitario de PVC de 40 mm de diámetro y esta distribuida en cada tanque, por arriba, a través de una entrada de agua de polipropileno de 40mm de diámetro regulada con una llave.

El nivel de agua se controla con un tubo de nivel interior al tanque y el desagüe de todos los tanques se realiza a través de una canaleta general.

Cada uno de los tanques consta de un tubo aerador de polietileno de 16 mm de diámetro perforado conectado a una tubería general de polietileno de 32 mm de diámetro.

El sistema de aireación dispone de llaves de plástico que permiten regular el flujo. Actualmente los reproductores se estabulan con un máximo de 20 ejemplares por tanque, en condiciones naturales de fotoperíodo y temperatura, oscilando entre 18 y 24°C. Se realizará un control diario, de la temperatura y oxígeno del agua. Se realizarán controles semanales de salinidad y pH.

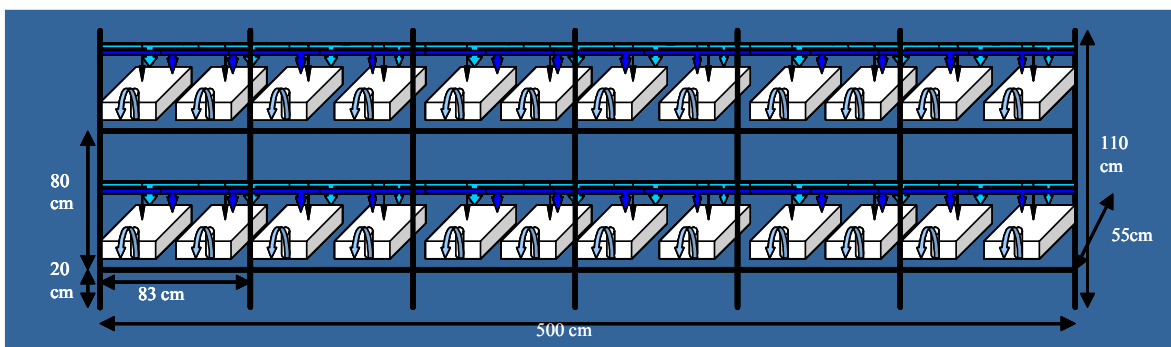


Figura 35. Diseño general de las instalaciones para el acondicionamiento de Reproductores



Figura 36. Fases de la nueva instalación. Red de agua fría, caliente, aireación y sistema de desagüe



Figura 37. Vista general de la nueva instalación

A final del 2008, para facilitar las labores de mantenimiento de los reproductores los tanques rectangulares se cambiaron por unos circulares de misma capacidad (60l) (Fig. 38), con un doble fondo perforado para una mejor separación de las heces y desechos de los especímenes. Se ha mantenido el mismo sistema de distribución de agua y el mismo sistema de entrada y salida de agua en los tanques.



Figura 38. Instalación actual para el mantenimiento de los reproductores

II.2.1. GALICIA (P₂)

La rentabilidad comercial en instalaciones industriales que pretenden producir juveniles, y adultos reproductores de *H. tuberculata* de forma viable, puede estar comprometida al tratarse de una especie de ciclo largo, salvo que se consiga secuenciar la producción a lo largo de todo el año. Esta posibilidad permite abordar una gestión más rentable, pero exige como contrapartida el dominio y extensión del ciclo reproductivo, más allá de las épocas naturales de puesta. Por esta razón hemos planteado la necesidad de disponer de mecanismos que permitan controlar el ciclo reproductivo de la especie.

Las instalaciones.- En el IGAF (Illa de Arousa, Pontevedra), hemos equipado una unidad para llevar a cabo este objetivo de poder estabular y acondicionar lotes de ejemplares reproductores en diferentes condiciones.

Los progenitores

Los individuos fueron capturados mediante técnicas de buceo, a partir de poblaciones localizadas en dos puntos diferentes de la costa de Galicia (Illa de Arousa, en el interior de la Ría de Arousa; e Illas Cíes, en la boca exterior de la Ría de Vigo).

La recepción de los individuos se realizó inicialmente en estas instalaciones, procedentes de las zonas de captura señaladas con anterioridad. Siendo transportados en neveras portátiles isotermas y en ambiente húmedo. Se procedió a una limpieza cuidadosa de epibiontes adheridos a la concha y a continuación se realizó un muestreo y marcaje individual con una etiqueta numérica pegada sobre la superficie de la concha.

Acondicionamiento

El periodo de estabulación comenzó en el mes de marzo de 2006. Una vez transcurrido el periodo inicial de aclimatación, se realizaron las tareas de acondicionamiento del stock de reproductores para determinar el posible efecto de tres fotoperiodos diferentes (O= oscuridad, N= fotoperiodo natural y A= fotoperiodo adelantado), sobre la alimentación y la maduración de los reproductores.

Para ello se estabularon, (en el interior de una sala acondicionada isoterma, cerrada), un total de tres lotes con 40 ejemplares, en tanques autolimpiantes de 1000 litros de capacidad, con desagüe central y flujo abierto con agua de mar a temperatura ambiente. Se introdujeron en los tanques varias tejas de PVC a modo de refugios.

El fotoperiodo de oscuridad (O) consistió en mantener el tanque tapado en todo momento con una malla de sombreo que únicamente permitía el paso de un 10% de la luz incidente. Las operaciones de reposición de alimento, muestreo mensual y supervisión diaria del estado de los ejemplares se realizaban retirando la cubierta del tanque, sin luz artificial, con la tenue iluminación ambiente que penetraba por dos claraboyas ubicadas en forma de ojo de buey en las puertas de acceso a la sala.

El fotoperiodo natural (N) consistió en la iluminación con 2 lámparas de luz día por tanque, de una potencia de 36 W cada una (mod. 765 Osram L), dispuestas de forma cenital al tanque y aisladas del exterior por una cubierta opaca. En el periodo de estudio se sincronizó el fotoperiodo utilizando un temporizador y el programa “Logo! Sofá Confort V 5.0”, con ello se consiguió disponer de las horas de luz-oscuridad registradas

por el Sistema de Información Ambiental de Galicia, utilizando los datos disponibles en este servicio, para la latitud geográfica más próxima a las instalaciones del minicriadero.

Diariamente se incrementaron los tiempos de exposición a la luz hasta alcanzar el equinoccio, adelantando el amanecer en un minuto y retrasando el ocaso también en 1 minuto (para un incremento total de 2 minutos por día). A partir del equinoccio se descendía gradualmente con la misma secuencia diaria.

El fotoperiodo adelantado se realizó siguiendo el procedimiento anterior aunque tomando como referencia los periodos de insolación naturales correspondientes a 60 días más tarde respecto a los de fotoperiodo natural. (Fig. 39)

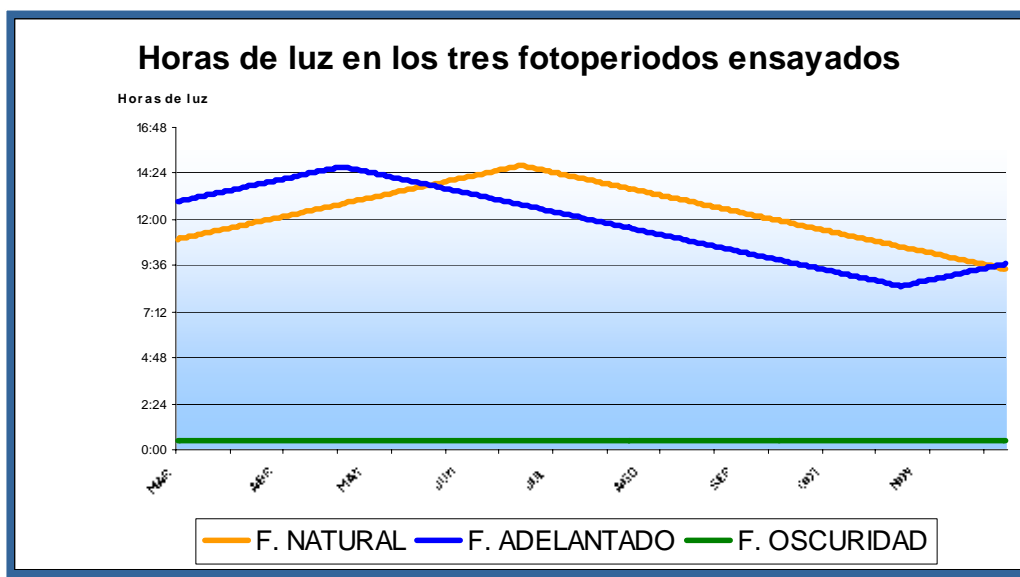


Figura 39. Evolución del fotoperiodo en el acondicionamiento

Tal como se establecía en el programa de actividades para esta línea se procedió a comparar los resultados de alimentación con pienso para reproductores, y con dieta fresca, basada en macroalgas pertenecientes a la familia *Laminariaceae*.

Esa elección respondía, en primer lugar, a que se trata de uno de los principales tipos de macroalgas que consumen los individuos presentes en los bancos naturales de *Haliotis tuberculata* de Galicia. En segundo lugar, se valoró la disponibilidad de este grupo de macroalgas en nuestras costas, a lo largo de todo el año, por lo que se trataría de una opción viable para cultivos de tipo comercial, frente al de otras especies de mejor rendimiento pero más escasas o sin presencia en nuestro ámbito geográfico.

La alimentación de los distintos lotes de reproductores se realizó, con macroalgas; pienso y macroalgas; y solo pienso, respectivamente, suministrados a saciedad y con cantidades disponibles directamente proporcionales a la biomasa inicial de cada uno de los lotes.

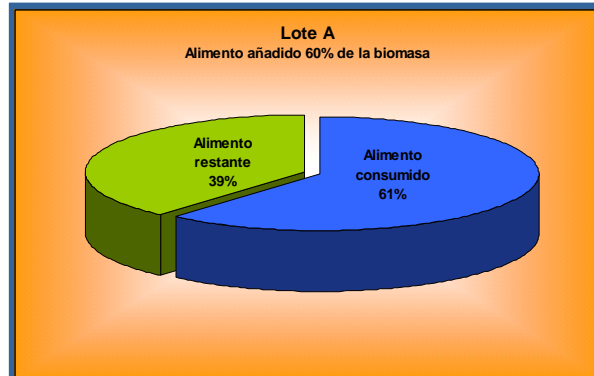


Figura 40. Relación entre la ración suministrada a los reproductores del Lote A y la cantidad no ingerida por los ejemplares de ese lote

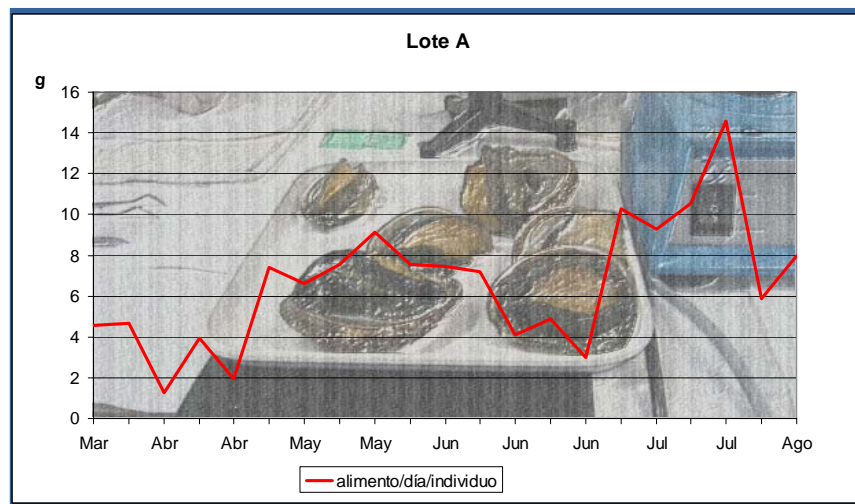


Figura 41. Cantidad de alimento ingerido por individuo en el Lote A.

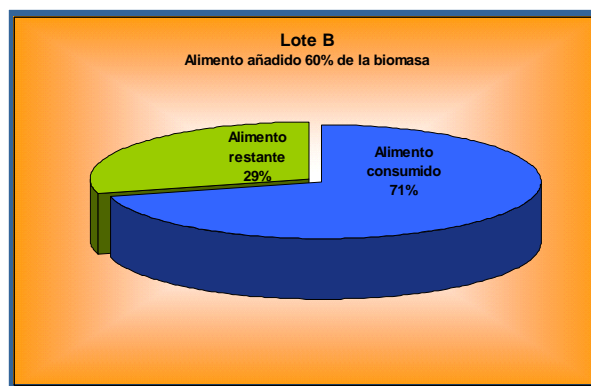


Figura 42. Relación entre la ración suministrada a los reproductores del Lote B, y la cantidad no ingerida por los ejemplares de ese lote

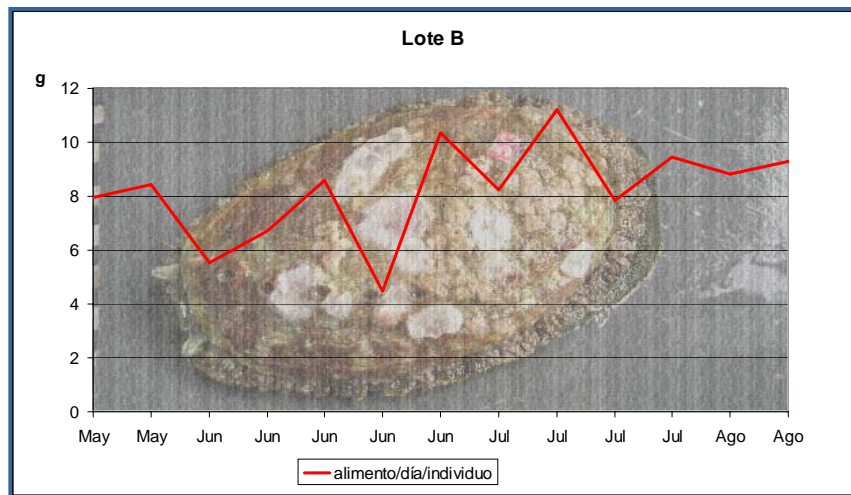


Figura 43. Cantidad de alimento ingerida por individuo, en el Lote B

La medición de la temperatura del agua (Fig.44) se realizó en continuo con una sonda “Stow Away Tibit Temp Logger”, que permitió el almacenamiento de los datos en intervalos de 15 minutos. Se incluyen en el Anexo I los datos de temperatura diaria.

La frecuencia de muestreo fue semanal para el alimento y cada treinta días para el registro de la biometría de los ejemplares en acondicionamiento, teniendo especial cuidado de no ocasionar daños en la manipulación y despegado de los animales.

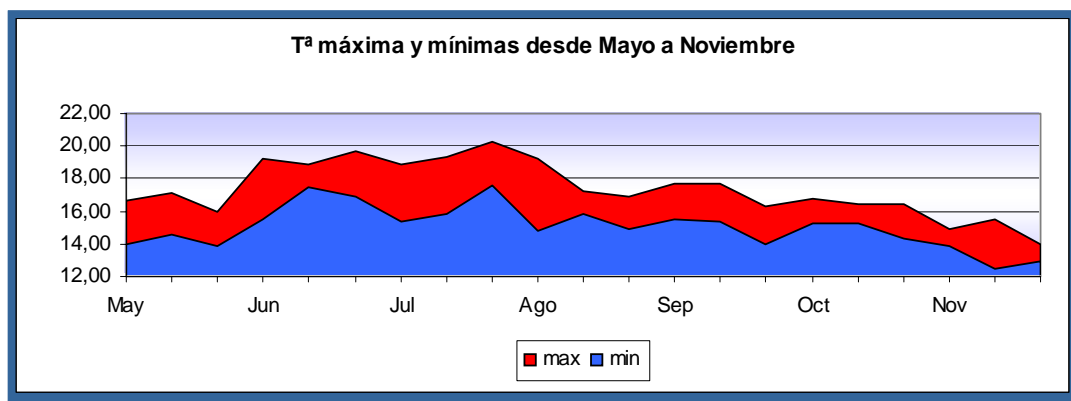


Figura 44. Evolución de la temperatura en el acondicionamiento

Los datos obtenidos, que relacionan los fotoperiodos de acondicionamiento y la tasa de ingesta de los reproductores muestran un menor consumo de alimento en los primeros días de estabulación, que se podría corresponder con el periodo de adaptación de los individuos a las condiciones de cultivo.

Aunque se ha observado, en términos generales, una mayor cantidad de alimento ingerido semanalmente, en el lote mantenido en condiciones de fotoperiodo oscuridad

(O), los resultados de la aplicación del test estadístico utilizado para los diferentes lotes sometidos a los tres fotoperiodos propuestos, indican que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) respecto a la tasa de ingesta, cuando se comparan entre ellas. De todos modos, durante el periodo de estudio, y una vez superado el periodo de aclimatación inicial, los ejemplares en acondicionamiento consumieron cantidades variables de alimento, que oscilaron entre 0,25g y 0,95g al día, por gramo de peso vivo de los individuos.

Los resultados obtenidos en un intervalo de estabulación de 71 a 114 días, según el lote correspondiente, nos han permitido establecer de forma preliminar un patrón de alimentación relacionado con la disponibilidad de luz por parte de los ejemplares estabulados.

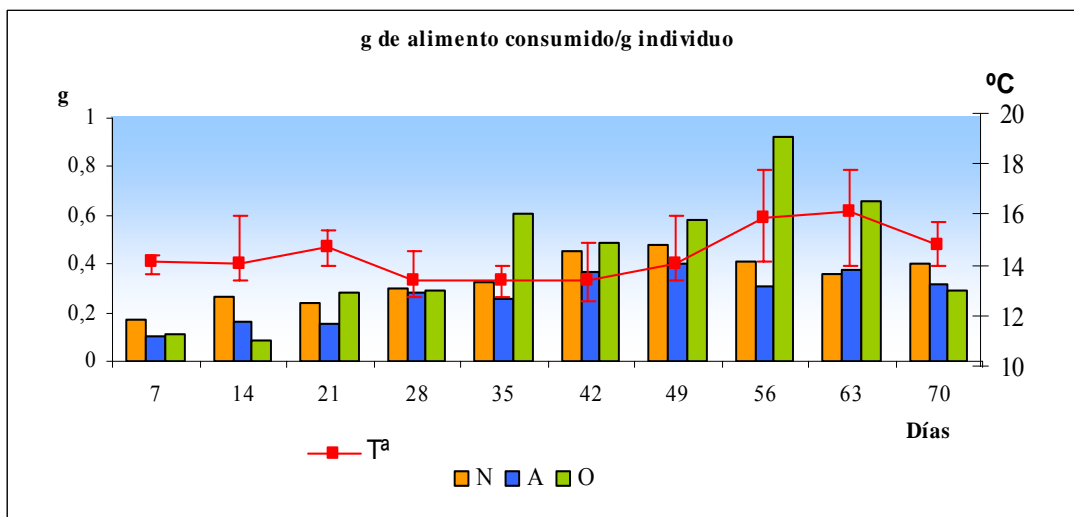


Figura 45. Evolución del consumo de macroalgas, para cada uno de los lotes sometidos a distinto fotoperiodo (T^a : temperatura, N: fotoperiodo natural, A: fotoperiodo adelantado, O: fotoperiodo oscuridad).

En la última fase que tuvo lugar a lo largo del año 2008 equipamos la sala de reproductores con un sistema de calentamiento de agua para poder ensayar el efecto combinado del fotoperiodo con la temperatura constante.

En este periodo se utilizó un pienso específico para reproductores y se realizaron pruebas de alimentación utilizando tres dietas diferentes: 1) pienso, 2) pienso y algas; y 3) algas.

En la última anualidad se realizaron modificaciones en los comederos para poder aumentar la durabilidad y conservación de los gránulos empleados como alimento. Para ello se dispusieron placas rígidas en el interior de las cajas de reproductores, que se mantuvieron a su vez suspendidas, en el interior de los tanques de acondicionamiento.

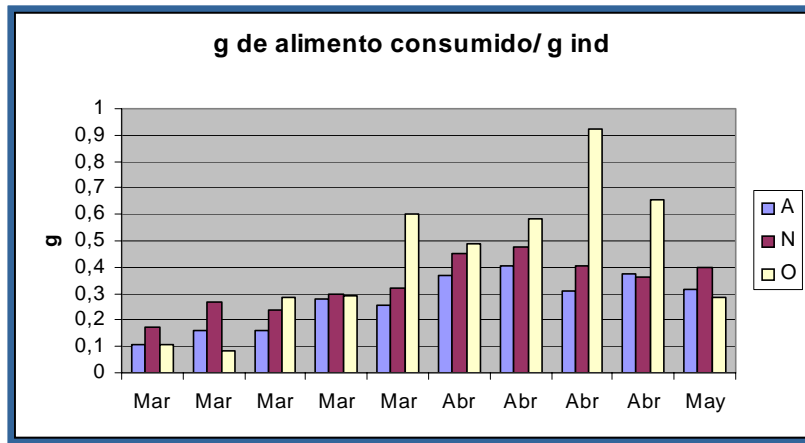


Figura 46. Tasa de ingesta en función del fotoperiodo empleado (N: fotoperiodo adelantado, A: fotoperiodo adelantado, O: fotoperiodo oscuridad)

Composición bioquímica

Tabla XXIV. Lípidos gonadales a lo largo de los meses de estudios

LIPIDOS ($\mu\text{g}/\text{mg}$)				
FECHA	Gónada hembras		Gónada machos	
	media	desv.	media	desv.
oct-06	134,72	$\pm 2,57$	139,41	$\pm 19,35$
nov-06				
dic-06	166,60	$\pm 20,14$	167,15	$\pm 1,00$
ene-07	197,35	$\pm 7,59$	190,76	$\pm 13,45$
feb-07	126,27	$\pm 7,64$	108,67	$\pm 1,94$
mar-07	157,16	$\pm 1,29$	99,35	$\pm 2,15$
abr-07	178,20	$\pm 3,79$	91,62	$\pm 4,64$
may-07	221,09	$\pm 8,89$	84,93	$\pm 3,53$
jun-07	157,72	$\pm 7,36$	70,70	$\pm 14,32$
jul-07	226,54	$\pm 18,63$	90,49	$\pm 0,78$
ago-07	224,22	$\pm 17,68$	72,41	$\pm 9,14$
sep-07	196,24	$\pm 29,43$	187,94	$\pm 37,78$
oct-07	168,27	$\pm 1,94$	195,19	$\pm 11,04$
nov-07	176,73	$\pm 16,29$	184,24	$\pm 8,03$
dic-07				
ene-08	208,82	$\pm 10,00$	117,65	$\pm 16,24$
feb-08	127,21	$\pm 9,36$	132,52	$\pm 2,25$

Tabla XXV. Proteína de gónada y músculos a lo largo de los meses de estudios

p

FFCHA	Gónada hembras		Gónada machos		Músculo hembras		Músculo machos	
	media	desv.	media	desv.	media	desv.	media	desv.
mar-06	182 59	+ 0 17	350 02	+ 17 54				
abr-06	289 49	+ 15 26	217 30	+ 10 84				
may-06	267 57	+ 8 82	259 84	+ 3 44				
jun-06	282 76	+ 4 26	208 04	+ 7 80				
jul-06	335 60	+ 0 31	293 68	+ 14 29				
ago-06	285 83	+ 3 79	201 14	+ 1 73				
sep-06	398 77	+ 24 37	379 73	+ 15 60				
oct-06	281 93	+ 5 73	289 31	+ 1 28				
nov-06								
dic-06	364 73	+ 4 46	255 60	+ 5 02				
ene-07	338 90	+ 31 53	277 88	+ 2 91	375 44	+ 15 78	461 18	+ 12 86
feb-07	298 42	+ 8 75	385 56	+ 12 86	577 52	+ 11 20	484 87	+ 14 38
mar-07	323 07	+ 4 73	330 89	+ 16 47	562 24	+ 16 08	451 33	+ 8 82
abr-07	323 38	+ 4 77	352 48	+ 7 07	461 24	+ 5 96	452 50	+ 18 75
may-07	327 61	+ 3 32	369 11	+ 4 32	433 68	+ 6 42	427 42	+ 0 22
jun-07	327 39	+ 13 20	428 48	+ 1 30	514 87	+ 3 17	543 69	+ 24 83
jul-07	325 78	+ 19 13	453 08	+ 3 21	476 49	+ 21 40	435 05	+ 21 13
ago-07	337 83	+ 4 16	352 55	+ 3 61	517 35	+ 13 27	518 83	+ 15 96
sep-07	434 73	+ 9 35	349 28	+ 10 51	563 33	+ 6 00	489 45	+ 20 28
oct-07	438 68	+ 10 01	435 18	+ 13 93	507 58	+ 5 90	497 30	+ 21 11
nov-07	312 38	+ 12 51	373 74	+ 3 93	459 99	+ 20 40	419 61	+ 17 27
dic-07								
ene-08	455 31	+ 13 48	329 63	+ 14 77	428 42	+ 14 61	461 05	+ 23 82
feb-08	249 26	+ 5 52	255 89	+ 2 86				

Tabla XXVI. Carbohidratos de gónada y músculo a lo largo de los meses de estudio

CARBOHIDRATOS ($\mu\text{g}/\text{mg}$)										
	Gónada hembras		Gónada machos		Músculo machos					
	media	desv	media	desv	media	desv	media	desv	media	desv
mar-06	29.81	± 0.01	34.62	± 2.59						
abr-06	35.23	± 0.11	27.55	± 0.32						
mav-06	28.86	± 1.48	33.92	± 2.55						
iun-06	28.49	± 1.10	33.22	± 1.86						
iul-06	31.84	± 1.88	34.48	± 2.58						
ago-06	36.71	± 0.93	41.42	± 2.16						
sep-06	43.29	± 2.02	33.48	± 0.17						
oct-06	46.67	± 0.62	48.53	± 4.61						
nov-06										
dic-06	35.14	± 1.00	36.40	± 2.42						
ene-07	28.73	± 1.92	31.29	± 2.99	143.81	± 5.69	130.20	± 6.73		
feb-07	37.58	± 1.03	23.96	± 0.59	75.14	± 1.51	64.77	± 5.28		
mar-07	34.61	± 0.73	34.36	± 0.64	21.13	± 1.68	70.38	± 6.85		
abr-07	41.62	± 1.08	39.82	± 1.78	75.73	± 1.09	69.89	± 2.63		
mav-07	44.20	± 4.11	39.29	± 0.63	76.37	± 6.40	141.17	± 13.32		
iun-07	41.37	± 2.19	25.45	± 1.19	27.57	± 1.69	64.44	± 3.30		
iul-07	34.67	± 1.11	25.12	± 0.56	42.20	± 0.77	91.02	± 0.53		
ago-07	30.52	± 1.83	25.61	± 0.88	44.84	± 0.60	66.04	± 4.19		
sep-07	42.01	± 3.55	36.41	± 1.53	45.39	± 3.40	176.79	± 3.03		
oct-07	48.86	± 3.61	30.23	± 2.07	146.91	± 8.50	148.47	± 3.77		
nov-07	41.39	± 1.84	41.49	± 2.69	184.94	± 3.47	201.45	± 9.93		
dic-07										
ene-08	46.44	± 0.28	40.38	± 1.34	159.09	± 10.23	161.33	± 7.28		
feb-08	35.15	± 2.66	30.08	± 2.67						

II.2.1. ASTURIAS (P₃)

La oreja de mar, a lo largo de su ciclo vital, sigue varias etapas antes de ser capaces de seguir esta dieta ramoneadora. En la fase larvaria la energía la obtiene de las reservas de la yema del huevo y de materia orgánica disuelta en el ambiente. Con la metamorfosis se produce un cambio y las larvas empiezan a consumir una dieta particulada (Kawamura *et al.*, 1998). Cuando alcanzan la talla de 0,8 mm, vuelven a variar la dieta (Kawamura *et al.*, 1998) empezando a consumir las diatomeas propiamente dichas. La transición al tipo de dieta definitiva ocurre cuando los ejemplares presentan una talla de entre 5 y 10 mm (Kawamura *et al.*, 1998). Este cambio tiene lugar de modo gradual, adquiriendo cada vez mayor relevancia las macroalgas en la dieta hasta sustituir completamente al raspado de diatomeas bentónicas.

La oreja de mar ramonea raspando con su rádula una amplia gama de algas. Su alimentación es fundamentalmente nocturna. Como son animales que tienden a realizar pocos desplazamientos, su alimentación se basa principalmente en las algas que la corriente va acumulando y poniendo a su disposición (Hayashi, 1978). Sólo cuando este suministro es insuficiente se van a mover en su búsqueda.

Existen numerosos estudios que determinan las preferencias de este molusco sobre las distintas especies de algas, sin embargo los resultados obtenidos difieren entre unos y otros, por lo que no se puede concluir la dieta más adecuada, ya sea de algas pardas, verdes, rojas o dietas mixtas (Guerra *et al.*, 1996).

Con el objetivo de determinar los parámetros de crecimiento de la oreja de mar en diferentes condiciones de cultivo, se llevaron a cabo 6 experiencias.

En el 2006 se llevó a cabo la primera experiencia. Se analizaron las preferencias que las orejas de mar presentan por tres macroalgas habituales de las costas asturianas (*Laminaria ochroleuca*, *Ulva sp.* y *Fucus serratus*) y el rendimiento que obtienen de cada una de ellas. La elección de estas dietas se realizó básicamente por la disponibilidad de las algas en el medio.

La experiencia de engorde se realizó con 180 ejemplares recolectados del medio natural, que se repartieron en 4 cestos con 45 ejemplares cada uno. En cada uno de ellos se utilizó una especie de alga distinta, excepto en uno, en el que se elaboró una dieta mixta con las tres especies de algas presentes en los otros cestos. (*L. ochroleuca*, *Ulva sp.* y *F. serratus*). La experiencia tuvo una duración de tres meses (junio, julio y agosto).

Los cestos tenían un tamaño de 50x30mm, dentro de las cuales se depositaron tubos de PVC cortados, que servían de cobijo para las orejas. Estos se introdujeron en tanques de 500 litros y con una renovación de agua de 2 litros el minuto. La temperatura y salinidad fue la misma para las cuatro experiencias, manteniéndose entre los rangos de 19 y 22 °C y 30 y 34‰, respectivamente.

Semanalmente se pesaba el alimento y se suministraba la correspondiente dieta en cada cestillo, sin restricciones. En la dieta mixta, se suministró la misma proporción de las tres algas. Transcurrida la semana, se retiraban las sobras y se procedía a su pesada, para estimar el alimento ingerido.

Para la determinación de los crecimientos y la eficiencia de los alimentos se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{Tasa de crecimiento en concha} = (L_2 - L_1) / \text{días de la experiencia} \times 1000$$

(1)

$$\text{Tasa de crecimiento específico} = (\ln W_2 - \ln W_1) / t \times 100$$

(2)

$$\text{Ganancia en peso (\%)} = ((W_2 - W_1) / W_1) \times 100$$

(3)

$$\text{Índice de conversión de alimento} = \sum \text{Ingesta} / \Delta \text{Biomasa}$$

(4)

En donde L_1 y L_2 son las longitudes iniciales y finales respectivamente, $\ln W_1$ y $\ln W_2$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_1 el peso inicial y W_2 el peso final.

RESULTADOS

Tabla XXVII. Crecimiento, conversión de alimento y supervivencia de *Haliotis tuberculata* alimentados con distintas macroalgas, durante 90 días

Parámetros	Dieta			
	Mixta	<i>L. ochroleuca</i>	<i>Ulva sp.</i>	<i>Fucus serratus</i>
Longitud inicial (mm)	33,51±4,63	33,52±4,98	33,49±4,72	33,47±4,67
Longitud final (mm)	37,62±4,41	36,54±4,46	38,61±4,46	36,44±5,14
Tasa de crecimiento en concha ($\mu\text{m día}^{-1}$)	45,67	33,55	56,89	33,00
Crecimiento específico (% día^{-1})	0,36	0,27	0,36	0,07
Peso inicial (g)	4,69±2,06	4,56±1,95	4,74±2,12	4,65±1,98
Peso final (g)	6,51±2,39	5,82±2,11	6,58±2,11	4,97±1,81
Ganancia en peso (%)	38,80	27,63	38,81	6,88
Alimento ingerido (g)	2683,2	1848	2345,5	274,5
Índice de conversión de alimento	32,35	35,2	29,89	-66,95
Mortalidad (%)	8,8	24,4	33,3	75,5

Los ejemplares utilizados en las distintas pruebas poseían la misma media de longitud y peso y varianzas homogéneas según el test Anova ($P > 0,05$).

Al final de la experiencia, las longitudes y pesos finales de los ejemplares no diferían entre las distintas dietas (Anova, $p > 0,05$), sin embargo sí que eran distintos a

los iniciales (Anova, $p \leq 0,05$), excepto en la dieta a base de *Fucus sp.*, en donde no se apreció un incremento en peso significativo (Anova, $p > 0,05$).

La mejor tasa de crecimiento en concha fue para los ejemplares alimentados con *Ulva* ($56,89 \mu\text{m dia}^{-1}$), siendo la dieta a base de *Fucus sp.* la que peores resultados ofreció ($33 \mu\text{m dia}^{-1}$). En cuanto a crecimiento específico, *Ulva* y la dieta mixta presentaron valores similares ($0,36\% \text{ dia}^{-1}$) y en *Fucus sp.* tan sólo se registro un crecimiento de $0,07\%$ al día. Con respecto a la ganancia en peso, *Ulva* continúa siendo la dieta más eficaz con un valor de $38,81\%$ y *Fucus sp.* se confirma como el alimento con el que se obtiene peor rendimiento ($6,88\%$).

El mejor resultado del Índice de Conversión de Alimento se obtiene con la dieta a base de *Ulva* ($29,89$), registrándose un valor negativo para este índice en la dieta a base de *Fucus sp.*, es decir, se obtiene una pérdida de biomasa al final de la experiencia con los ejemplares alimentados a base de esta macroalga.

Las mortalidades obtenidas son significativamente elevadas, desde un $8,8\%$ en la dieta mixta hasta un $75,5\%$ en la dieta a base de *Fucus sp.*

En cuanto a los porcentajes de alga consumida en la dieta mixta, se denota una clara preferencia de las orejas por la *Ulva*, con un consumo del 60% , seguida de *Laminaria* con una ingesta del 35% y, por último, de *Fucus sp.* con un 5% .

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos, la dieta a base de *Ulva* parece ser la que mejores rendimientos produce. Según Guerra *et al.* (1996), las dietas monoalgales a base de algas verdes son las que presentan mejores resultados. En su experiencia con ocho macroalgas y una dieta mixta, los mejores resultados los aportó la dieta a base de *Codium tomentosum*, con un incremento en concha diario de $52,38 \mu\text{m}$ al día, inferior al conseguido en el presente trabajo con dieta a base de *Ulva* ($56,89 \mu\text{m}$ al día). En ese estudio también existía una dieta que contenía *Ulva*, sin embargo los resultados fueron incluso menores.

Los malos resultados obtenidos en la dieta a base de *Fucus sp.* implican desechar este alimento para el engorde de las orejas de mar. Resulta representativo el dato negativo en el Índice de Conversión de Alimento, cuando se observa que las longitudes y pesos finales son superiores a los iniciales. Esto puede ser debido a que esta alga parda no forma parte de la dieta de las orejas y los ejemplares prácticamente no se alimentan de ella, incluso a falta de otro alimento, como demuestran los datos de ingesta. Por esto, se observa una elevada mortalidad, siendo ésta provocada por la inanición con la consiguiente pérdida en peso de los ejemplares antes de morir. Sin embargo, parece ser que algunos ejemplares se adaptan a este alimento y son estos los que logran sobrevivir, incrementando su tamaño. No obstante, este crecimiento de unos pocos ejemplares no logra compensar las pérdidas obtenidas.

En el 2008 se llevaron a cabo otras 5 experiencias con juveniles procedentes del medio natural de la costa asturiana y del criadero del ICCM de Canarias, evaluando las tasas de crecimiento y supervivencia de acuerdo a las condiciones de cultivo y al alimento suministrado.

Experiencia nº 2

INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de la mayoría de las macroalgas es estacional. También, la composición bioquímica de éstas varía a lo largo de su fase adulta. Por esto, para plantearse el engorde de la oreja de mar en ciclos anuales, con algas presentes en nuestras costas, se requiere hacer acopio de estas en la estación apropiada y conservarlas de tal manera que no se pierda su valor nutritivo.

En este estudio se analiza el crecimiento que ofrecen dos piensos semihúmedos elaborados a base de *Ulva sp.*, que se ha secado a temperatura ambiente para mantener sus cualidades nutritivas. A uno de ellos se le ha añadido gelatina como aporte extra de proteína animal y ambos se comparan con el crecimiento que ofrece la misma alga en fresco.

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia de engorde en cautividad se realizó con ejemplares recolectados del medio natural, en el Occidente de Asturias.

Para cada tipo de dieta se dispuso de un cestillo con 30 ejemplares más su réplica, en las mismas condiciones, por lo que en total se utilizaron seis cestillos con 180 ejemplares. La experiencia tuvo una duración de 133 días (29/01 al 10/06 del 2008).

El alimento se suministró *ad libitum* cada tres días y se calculó la ingesta de alimento.

Los cestillos tenían un tamaño de 36x36 cm, dentro de los cuales se colocaron secciones longitudinales de tubos de PVC para el cobijo de las orejas. Éstos se asentaron en tanques de 1000 litros, en circuito semiabierto y con una renovación de agua de 1 L/minuto. La regulación de la temperatura se realizó por medio de un tanque colector que permitió obtener valores de $19\pm 1^{\circ}\text{C}$. La salinidad se mantuvo en rangos entre 30‰ y 34‰. El fotoperiodo fue natural.

La *Ulva sp.*, empleada para las dietas fue recolectada en la ría del Eo y mantenida en tanques de 1000L con renovación constante de agua y aireación fuerte. El fotoperiodo fue natural. Parte de ésta fue deshidratada al sol y picada para la elaboración de los piensos semihúmedos.

Para la elaboración de los piensos semihúmedos se utilizó como aglutinante el agar al que se adicionó alga seca en un caso y esta misma cantidad de alga seca más otra cantidad de gelatina como aporte extra de proteínas en el otro. Los porcentajes de cada uno de los componentes se reflejan en la Tabla XXVIII. Se calculó el porcentaje de alga seca con respecto al alga fresca.

Tabla XXVIII. Composición porcentual en agua, alga seca, polisacáridos (agar) y proteína (gelatina) de las distintas dietas

Dieta	Composición (%)			
	Agua	Alga seca	Polisacáridos (Agar)	Gelatina
<i>Ulva sp. fresca</i>	89,4	10,6		
Pienso <i>Ulva sp.</i>	90	7,6	2,3	
Pienso <i>Ulva sp.</i> + Gelatina	86	7,4	2,2	3,7

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS v13 para Windows para comprobar si existen diferencias en cuanto al crecimiento mediante el test ANOVA. Para la determinación de los crecimientos y la eficiencia de los alimentos se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{Tasa de Crecimiento en Concha (TCC)} = (L_2 - L_1) / \text{días de la experiencia} \times 1000$$

$$\text{Tasa de Crecimiento Específico (TCE)} = (\ln W_2 - \ln W_1) / t \times 100$$

$$\text{Ganancia en Peso (\%)} (GP) = ((W_2 - W_1) / W_1) \times 100$$

$$\text{Índice de Conversión de Alimento (IC)} = \sum \text{Ingesta} / \Delta \text{Biomasa}$$

En donde L_1 y L_2 son las longitudes iniciales y finales respectivamente, $\ln W_1$ y $\ln W_2$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_1 el peso inicial y W_2 el peso final.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la experiencia de engorde se ven reflejados en la Tabla XXIX:

Tabla XXIX. Crecimiento, conversión de alimento y supervivencia de *Haliotis tuberculata* al inicio de la experiencia y después de ser alimentados con las distintas dietas durante 113 días

Parámetros	Dieta		
	<i>Ulva sp.</i>	Pienso <i>Ulva sp.</i>	Pienso <i>Ulva sp.</i> + Gelatina
Longitud inicial (mm)	31.05±5.01	31.85±5.25	31.42±5.73
Longitud final (mm)	34.84±4.91	34.50±4.45	33.67±5.31
Tasa de crecimiento en concha ($\mu\text{m día}^{-1}$)	28.49	19.92	16.91
Crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$)	0.26	0.23	0.19
Peso inicial (g)	3.65±1.70	3.81±1.95	3.86±1.94
Peso final (g)	5.18±2.22	5.18±1.76	5.01±2.46
Ganancia en peso (%)	41.9	35.95	29.79
Alimento ingerido ($\text{mg abalón}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	50	90	90
Índice de conversión de alimento	25.88	39.16	40.86
Mortalidad (%)	8.3	1.6	8.3

Los ejemplares utilizados en las distintas pruebas poseían la misma media de longitud y peso y la misma desviación estándar al inicio de la experiencia según el test ANOVA ($p > 0.05$).

Al final de la experiencia, las longitudes y pesos finales de los ejemplares no diferían tanto entre las distintas réplicas como entre las distintas dietas (ANOVA, $p > 0.05$), sin embargo sí eran distintos a los iniciales (ANOVA, $p \leq 0.05$) demostrándose así que hubo crecimiento y que éste no difería en cuanto al alimento suministrado.

En cuanto a las Tasas e Índices empleados, sí que muestran distintos valores para las distintas dietas. Estos valores siempre fueron superiores en la dieta a base de *Ulva sp.*, mostrando los valores más bajos los ejemplares alimentados con pienso semihumedo a base de *Ulva sp.* con gelatina. Las supervivencias obtenidas fueron muy buenas, siempre superiores al 91%.

A pesar de que las diferencias en cuanto a crecimiento no sean significativas entre las tres dietas, el rendimiento obtenido por la dieta a base de *Ulva* fresca resulta superior al que se produjo con los piensos semihúmedos. De éstos, los resultados obtenidos en el pienso a base de *Ulva* fueron superiores a los obtenidos con el enriquecido con gelatina.

El comportamiento de ambos piensos en el agua resultó ser satisfactorio, conservando su consistencia a lo largo de una semana. También se observa que los cestillos a los que se aportó este alimento se mantienen más limpios y las labores de mantenimiento requieren menos esfuerzos.

Destacar los bajos valores obtenidos en cuanto a las tasas calculadas en las tres experiencias. Simplemente al comparar la TCC con la dieta a base de *Ulva sp.* fresca (28.49 μm al día) con la obtenida anteriores experiencias con la misma macroalga (56.89 μm al día) (López-Ruiz *et al.*, 2007), se observa que el rendimiento obtenido es sensiblemente inferior.

En cuanto al pienso semihúmedo a base de *Ulva sp.*, se observa que las diferencias con respecto a la macroalga en fresco no son significativas y provee al cultivo de unas ventajas importantes como son la disponibilidad anual de alimento, la posibilidad de adicionar otros compuestos que potencien el crecimiento y su estabilidad en el agua.

CONCLUSIONES

A pesar de que no existen diferencias significativas en cuanto a crecimiento, la dieta a base de *Ulva sp.* presenta un mejor rendimiento con una TCC de 28.49 μm día⁻¹, una TCE de 0.26% al día, una GP de 41.9% y un IC de 25.88. En todos los casos la supervivencia superó el 91%. Se desecha el aporte de gelatina como complemento proteico al no aportar ninguna mejora, siendo sus rendimientos los peores entre las tres dietas empleadas. El comportamiento del pienso semihúmedo fue satisfactorio ofreciendo al cultivo unas ventajas importantes como son la disponibilidad anual de alimento, la posibilidad de adicionar otros compuestos que potencien el crecimiento y su estabilidad en el agua.

Experiencia nº 3

INTRODUCCIÓN

La oreja de mar es un gasterópodo que se alimenta durante la mayor parte de su vida de macroalgas disponibles en su entorno. Existen numerosos estudios que determinan las preferencias de este molusco sobre las distintas especies de algas, sin embargo los resultados obtenidos difieren entre sí por lo que no se puede concluir sobre cual es la dieta más adecuada (Guerra *et al.*, 1996). Por otra parte, también la proteína animal, que en el medio natural la obtienen de la microfauna epibionte de las algas, representa un complemento fundamental para el buen crecimiento de los individuos.

El estudio compara el crecimiento de ejemplares de *Haliotis tubercula coccinea* (Reeve, 1846) procedentes del ICCM (Instituto Canario de Ciencias Marinas) alimentados con dos tipos de piensos semihúmedos elaborados a base de agar, macroalga *Ulva sp.* y gelatina y otro a base de agar, *Ulva sp.* y mejillón. La *Ulva sp.* ha demostrado que ofrece buenos resultados en relación a otras macroalgas ensayadas y presentes en la zona de asentamiento de la población (López *et al.*, 2007).

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia de engorde en cautividad se realizó con ejemplares de *Haliotis tubercula coccinea* (Reeve, 1846) procedentes del ICCM (Instituto Canario de Ciencias Marinas). La experiencia se llevó a cabo en los meses de marzo a mayo, durante 92 días.

Para cada tipo de dieta se utilizaron tres réplicas con un total de 20 ejemplares cada una. Se utilizó un cestillo para cada dieta, dividido en tres partes que contenían las tres réplicas de cada experiencia.

Los cestillos tenían un tamaño de 36x36cm, dentro de los cuales se colocaron secciones longitudinales de tubos de PVC para el cobijo de las orejas. Éstos se asentaban con unos flotadores en tanques de 1000 litros, a 40cm del fondo de éste, en circuito semiabierto y con una renovación de agua de 1 L/minuto. La regulación de la temperatura se realizó por medio de un tanque colector que permitió obtener valores de $19\pm 1^{\circ}\text{C}$. La salinidad se mantuvo entre 30‰ y 34‰. El fotoperiodo fue natural.

El alimento se suministró *ad libitum* cada tres días y se calculó la ingesta de alimento.

Se elaboraron dos tipos de piensos semihúmedos a base de la macroalga *Ulva sp.*, con un aporte extra de gelatina y mejillón, en cada uno de ellos. En ambos casos se utilizó el agar como aglutinante.

La *Ulva sp.*, empleada para la dieta fue recolectada en la ría del Eo, deshidratada al sol y picada para su uso como ingrediente en los piensos.

El mejillón procedente de la ría del Eo, se escurrió y se trituró para la preparación del pienso.

Los porcentajes de cada uno de los componentes se reflejan en la tabla, donde se expresa la cantidad de agua y el peso seco de los elementos de cada dieta.

Tabla XXX. Composición porcentual en agua, alga seca, polisacáridos (agar), mejillón (peso seco) y gelatina de las distintas dietas

Dieta	Composición (%)				
	Agua	Alga seca	Polisacáridos (Agar)	Mejillón seco	Gelatina
Pienso Mejillón	87.8	5.3	1.6	5.3	
Pienso <i>Ulva sp.</i> + Gelatina	87.4	7.0	2.1		3.5

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS v13 para Windows para comprobar si existen diferencias en cuanto al crecimiento mediante el test ANOVA.

Para la determinación de los crecimientos y la eficiencia de los alimentos se emplearon las siguientes fórmulas (Ecuaciones 1-4):

$$\text{Tasa de Crecimiento en Concha (TCC)} = (L_2 - L_1) / \text{días de la experiencia} \times 1000$$

$$\text{Tasa de Crecimiento Específico (TCE)} = (\ln W_2 - \ln W_1) / t \times 100$$

$$\text{Ganancia en Peso (\%)} (GP) = ((W_2 - W_1) / W_1) \times 100$$

$$\text{Índice de Conversión de Alimento (IC)} = \sum \text{Ingesta} / \Delta \text{Biomasa}$$

En donde L_1 y L_2 son las longitudes iniciales y finales respectivamente, $\ln W_1$ y $\ln W_2$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_1 el peso inicial y W_2 el peso final.

RESULTADOS

Tabla XXXI. Crecimiento, conversión de alimento y supervivencia de *Haliotis tuberculata coccinea* después de ser alimentados con las distintas dietas durante 92 días

Parámetros	Dieta	
	Pienso <i>Ulva sp.</i> + Mejillón	Pienso <i>Ulva sp.</i> + gelatina
Longitud inicial (mm)	19.54±3.02	19.63±2.98
Longitud final (mm)	25.98±3.73	23.50±3.00
Tasa de crecimiento en concha ($\mu\text{m día}^{-1}$)	70.00	42.06
Crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$)	0.89	0.53
Peso inicial (g)	0.99	0.95
Peso final (g)	2.25	1.55
Ganancia en peso (%)	127.27	63.15
Alimento ingerido ($\text{mg mgabalón}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	13.27	13.69
Índice de conversión de alimento	15.77	26.65
Mortalidad (%)	11.66	3.33

Las longitudes y pesos iniciales de cada una de las experiencias son similares no existiendo diferencias significativas en ningún caso (ANOVA, $p > 0.05$).

Según en test ANOVA, existen diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en cuanto a crecimiento entre las dos dietas utilizadas.

Se observa que la dieta a base de mejillón ofrece unos resultados notablemente superiores en todos los índices utilizados. El Alimento Ingerido fue similar para las dos dietas, sin embargo, el Índice de Conversión de Alimento fue muy superior en la dieta de mejillón.

La mortalidad en la dieta a base de mejillón fue sensiblemente superior, sin embargo, solo se produjo en el primer mes de estabulación, siendo la supervivencia del 100% en los meses sucesivos para ambos casos.

Las ecuaciones que definen el crecimiento se ajustan a una recta lineal (Figura 47). La pendiente de la ecuación que define el crecimiento de la dieta a base de mejillón (Ecuación 5) llega a doblar prácticamente a la obtenida con la dieta a base de *Ulva* (Ecuación 6).

$$y = 2,123x + 17,79; R^2 = 0,978$$

$$y = 1,253x + 18,72; R^2 = 0,950$$

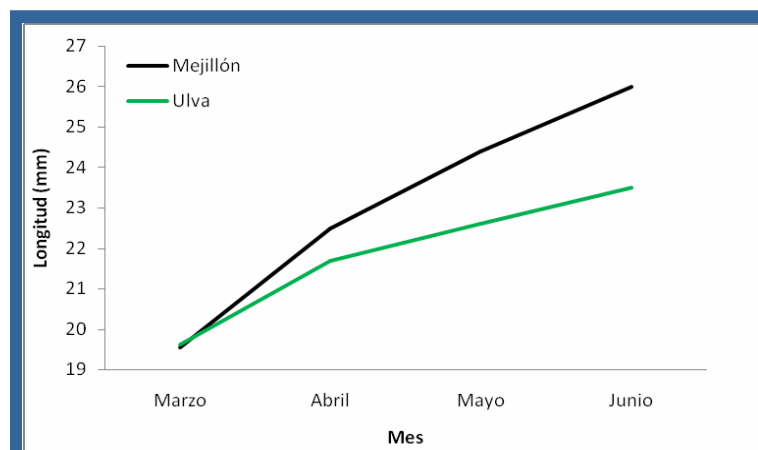


Figura 47. Rectas que definen el crecimiento (mm) con los dos tipos de piensos

En estudios anteriores se ha observado que la *Ulva sp.* es la macroalga que ofrece los mejores resultados de las especies ensayadas y mas abundantes en las costas occidentales asturianas (López *et al.*, 2007). También se ha demostrado que el pienso semihúmedo a base de esta macroalga complementada con gelatina aporta unos crecimientos similares a los obtenidos con una dieta a base de *Ulva sp.* fresca (López *et al.*, 2008).

Para mejorar los resultados que se obtienen con estas dietas a base de algas presentes en el medio, existen varios estudios que someten a éstas a un aporte extra de nutrientes, básicamente al tratarlas como biofiltros. Viera *et al.* (2005), tras usar varias especies de algas como biofiltros, obtiene unos incrementos en concha diarios de hasta 126.6µm al día, muy superiores a los obtenidos con las algas naturales.

Shpigel *et al.* (1999) y Neori *et al.* (2000) demostraron la influencia de las variaciones en el contenido proteico de la macroalga *Ulva lactuca* en el crecimiento de *Haliotis discus hannai*. También, Demetropoulos y Langdon (2004) observaron un mayor crecimiento en *Haliotis spp.* al alimentarlo con *Palmaria mollis* enriquecida con proteínas.

Para la alimentación de las orejas de mar, a pesar de ser moluscos con alimentación herbívora, se demuestra que los nutrientes que aporta la dieta mixta, con base de *Ulva sp.* y mejillón, ofrecen unos rendimientos notablemente superiores a la dieta mixta, con base de *Ulva sp.* y gelatina.

Para otros organismos propiamente herbívoros (*Paracentrotus lividus*), también se ha demostrado que la dieta basada en alimento animal ofrece mejores resultados que los obtenidos con base vegetal (Fernández y Pergent, 1998, Fernández y Boudouresque, 2000).

En este estudio se encuentran diferencias significativas entre las distintas dietas empleadas, demostrándose que el alimento con mayor aporte animal, en este caso mejillón, ofrece unos resultados notablemente superiores, llegando en algunos casos a doblar a los obtenidos con el alimento con base de macroalgas.

CONCLUSIONES

A igual Tasa de Ingestión, el Índice de Conversión de Alimento y el crecimiento en longitud y peso de *Haliotis tuberculata coccínea* es notablemente superior con dietas mixtas basadas en alimento animal que el que se obtiene con las dietas mixtas con base vegetal.

También se demuestra que el pienso semihúmedo elaborado tiene un comportamiento muy bueno en el agua proporcionando al cultivo unas ventajas importantes, como son la disponibilidad anual de alimento, la posibilidad de adicionar otros compuestos que potencien el crecimiento y su estabilidad en el agua.

Experiencia nº 4

INTRODUCCIÓN

En esta experiencia se trató de comprobar si existen diferencias en cuanto a crecimiento y engorde entre dos subespecies de oreja de mar: *Haliotis tuberculata* del Cantábrico y *Haliotis tuberculata coccínea* (Reeve, 1846) obtenida en el Centro del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), con reproductores canarios, al recibir ambas una misma dieta semihúmeda preparada a base de agar, *Ulva sp.* seca y *Mytilus edulis* fresco.

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia se llevó a cabo desde el 16 de junio al 17 de septiembre, es decir 93 días. Para llevar a cabo esta experiencia se seleccionaron 72 ejemplares: 36 de

Asturias ($28,31 \pm 4,38$ mm de longitud inicial) y 36 procedentes del ICCM ($27,42 \pm 4,44$ mm de longitud inicial). Los ejemplares canarios fueron obtenidos con reproductores canarios, se trasladaron a Asturias en seco, en una caja de poliespan y sobre un paño humedecido en agua de mar. El transporte se llevó a cabo el día 5 de diciembre del 2007 y con una talla media de 18,5mm y 0,95g.

Los ejemplares, de cada procedencia, se distribuyeron en 2 tamices flotantes de 33 x 36cm, compartimentados con 3 réplicas de 12 individuos cada uno. Se colocaron en un tanque de 1000 L con circuito semiabierto y aireación. En cada tamiz se introdujeron secciones de tubos de PVC para que las orejas pudiesen guarecerse de la luz.

Se les daba de comer 3 veces por semana *ad libitum*, los restos eran retirados y pesados para estimar el alimento ingerido.

El alimento que se les administró consistió en un pienso semihúmedo (elaborado en el CEP de Castropol) a base de agua de mar filtrada (70%), polisacáridos (agar) (2%), mejillón fresco triturado (23%) y *Ulva sp.* seca triturada (5%), que se presentaba en forma de lonchas las cuales eran envasadas al vacío y conservadas en frigorífico. En el momento de alimentar a los ejemplares, las lonchas eran troceadas para que todos tuviesen fácil acceso al alimento. Para análisis comparativo entre ambas dietas se utilizaron las siguientes tasas e índice:

$$\text{Tasa de crecimiento en concha} = (L_2 - L_1) / \text{días de la experiencia} \times 1000$$

$$\text{Tasa de crecimiento específico} = (\ln W_2 - \ln W_1) / t \times 100$$

$$\text{Ganancia en peso (\%)} = ((W_2 - W_1) / W_1) \times 100$$

$$\text{Índice de conversión de alimento} = \sum \text{Ingesta} / \Delta \text{Biomasa}$$

En donde L_1 y L_2 son las longitudes iniciales y finales respectivamente, $\ln W_1$ y $\ln W_2$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_1 el peso inicial y W_2 el peso final.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS v13 para Windows para comprobar si existen diferencias en cuanto al crecimiento mediante el test ANOVA.

RESULTADOS

Los datos obtenidos a lo largo de la experiencia, la cual se prolongó por un total de 93 días, se resumen en la Tabla.XXXIII

La temperatura osciló entre 17,2 y 20,3°C y la salinidad se mantuvo en un rango de 31,3 y 33,8 ‰. Los niveles de oxígeno fueron superiores al 80%. El fotoperiodo fue de 6 horas de luz/18 horas de oscuridad durante toda la experiencia.

No se aprecian diferencias significativas en cuanto al crecimiento y engorde entre ambas procedencias, (ANOVA, $p > 0,05$). De hecho la Tasa de Crecimiento Específico, como la Ganancia en Peso, presentan valores muy similares ($0,63/0,62\%$ día⁻¹ y $79,46/77,31\%$, respectivamente), lo que se confirma con la representación gráfica de los datos obtenidos, donde ambas líneas son paralelas a lo largo de casi toda la experiencia.

Tabla XXXII. Datos, Tasas e Índices resultantes en la experiencia de engorde en ambas subespecies

Parámetros	Especie	
	<i>H. tuberculata tuberculata</i>	<i>H. tuberculata coccinea</i>
Longitud inicial (mm)	28,31 ± 2,13	26,58 ± 1,76
Longitud final (mm)	34,07 ± 2,70	32,16 ± 2,95
Tasa Crecimiento en Concha (µm día ⁻¹)	61,85	60,01
Tasa Crecimiento específico (% día ⁻¹)	0,63	0,62
Peso inicial (g)	2,52 ± 0,56	2,28 ± 0,48
Peso final (g)	4,52 ± 0,85	4,05 ± 1,11
Ganancia en peso (%)	79,46	77,31
Índice Conversión Alimento	23,33	24,11
Alimento ingerido (mg abalón ⁻¹ día ⁻¹)	0,13	0,14
Mortalidad (%)	16,67	11,11

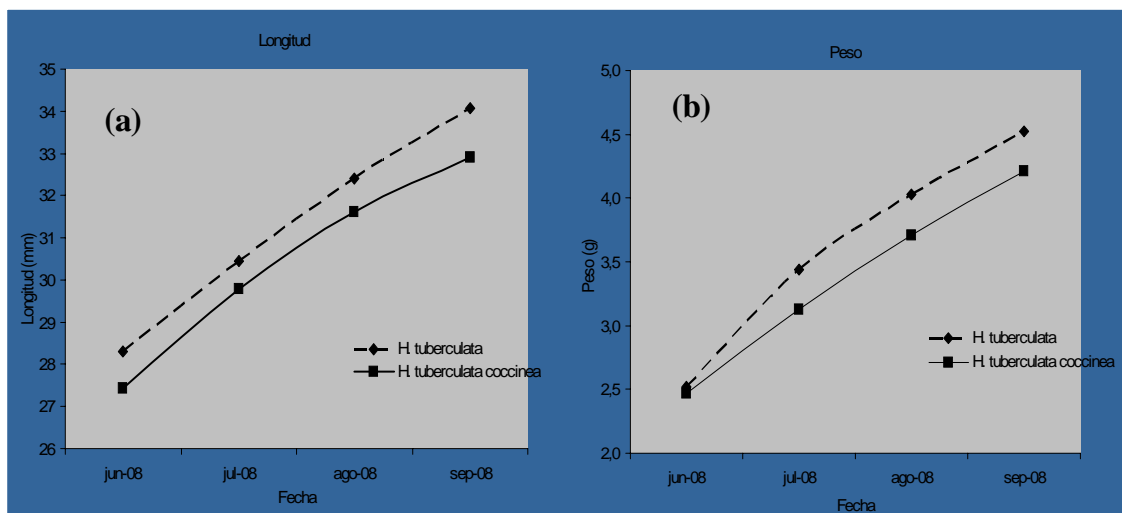


Figura 48. Crecimiento el longitud (mm) (a) y peso (g) (b) a lo largo de los meses de estudio

El análisis de la varianza no muestra diferencias significativas (ANOVA, $p > 0,05$) entre procedencias. Por otro lado, el test de Tukey muestra que existe crecimiento a lo largo de los 3 meses que duró la experiencia.

La mortalidad resultante durante la experiencia fue del 11,11% en los ejemplares procedentes de Canarias y de un 16,67% en los de Asturias.

Reseñar que a lo largo del experimento se produjeron desoves, el 30 de julio, el 8 y 26 de agosto y el 11 de Septiembre, en las de Asturias, y el 26 de agosto en las de Canarias.

Los resultados obtenidos muestran que no hay diferencias ni en el crecimiento ni en el engorde entre ambas subespecies y procedencias del Género *Haliotis*.

Si comparamos la Tasa de Crecimiento en Concha y Crecimiento Específico de la subespecie Asturiana ($61,85 \mu\text{m día}^{-1}/0,63\% \text{ día}^{-1}$) respecto a las obtenidas en trabajos anteriores, con ejemplares de la misma procedencia y alimentadas con distintas especies de macroalgas frescas, el resultado es siempre superior: *Ulva sp.* ($56,89 \mu\text{m día}^{-1}/0,36\% \text{ día}^{-1}$), *Laminaria ochroleuca* ($33,55 \mu\text{m día}^{-1}/0,27\% \text{ día}^{-1}$) y *Fucus sp.* ($33 \mu\text{m día}^{-1}/0,07\% \text{ día}^{-1}$). (López *et al*, 2007). Del mismo modo, Guerra *et al*, (1996) obtiene unos valores inferiores con las macroalgas: *Codium* ($52,38 \mu\text{m día}^{-1}$) y *Enteromorpha* ($41,84 \mu\text{m día}^{-1}$).

Esto puede deberse al aporte proteico y lipídico del mejillón triturado del pienso semihúmedo, respecto al alga sola en estado fresco. De hecho Gómez-Montes *et al* (2002) con otra especie del género *Haliotis* (*H. fulgens*) obtuvieron tasas de entre 61 y $123 \mu\text{m día}^{-1}$ en una experiencia en la que quedó patente que a mayor proporción de proteína mayor tasa de crecimiento.

El Crecimiento Específico en la subespecie Canaria ($60,01 \mu\text{m día}^{-1}$), la tasa es similar a la obtenida por Viera *et al* (2005) con *Gracilaria cornea* ($61,71 \mu\text{m día}^{-1}$), e inferior a la de dos especies del género *Hypnea*: *H. musciformis* ($81,79 \mu\text{m día}^{-1}$) y *H. spinella* ($126,61 \mu\text{m día}^{-1}$). Estas diferencias pueden deberse a que en este caso las especies utilizadas como alimento servían previamente como biofiltros, y por tanto poseían un mayor contenido en nutrientes.

CONCLUSIONES

Una vez obtenidos los resultados y de cara a plantearse un cultivo extensivo de la especie, no tendría ninguna ventaja el usar una variedad frente a la otra, puesto que no se aprecian diferencias, ni en el crecimiento ni en el engorde.

Experiencia nº 5

INTRODUCCIÓN

En este experimento se trató de evaluar si existía alguna diferencia en el crecimiento o engorde de *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758) con dos dietas semihúmedas, una a base de mejillón y lechuga de mar, ya utilizada en otras experiencias y con buenos resultados obtenidos (López *et al*, 2008) (en prensa), y otra igual pero con un suplemento de cangrejo triturado.

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia se llevó a cabo durante 91 días, desde el 18 de junio al 17 de septiembre. Se seleccionaron 86 ejemplares de *Haliotis tuberculata* procedentes de la costa asturiana de $34,58 \pm 5,23$ mm de longitud inicial, y se repartieron en 6 tamices de 33 cm x 36 cm, de manera que se tenían 3 réplicas para cada dieta.

En cada tamiz se colocaron secciones de tubos de PVC para que las orejas pudiesen guarecerse de la luz.

Dichos tamices se colocaron flotando en un tanque de 1000 L, con una columna de agua de unos 12 cm aproximadamente, circuito semiabierto y aireación.

Se hicieron dos dietas semihúmedas:

- Dieta de Mejillón (D.M): hecha con agua de mar filtrada, polisacáridos (agar), mejillón fresco y triturado y *Ulva sp.* seca triturada .
- Dieta de Mejillón y Cangrejo (D.M.C): Misma composición que D.M pero con un suplemento de Cangrejo fresco triturado.

Tabla XXXIII. Composición porcentual en agua, alga seca, polisacáridos (agar), mejillón y cangrejo de las distintas dietas

Dieta	Composición (%)				
	Agua de mar	<i>Ulva</i> seca	Polisacáridos Agar	Mejillón fresco	Cangrejo
Dieta Mejillón	70%	5%	2%	23%	
Dieta Mejillón - Cangrejo	65	4%	2%	22%	7%

El alimento se presentaba en forma de lonchas las cuales eran envasadas al vacío y conservadas en frigorífico hasta su uso. Cuando se les iba a alimentar las lonchas eran troceadas para que hubiese un reparto homogéneo del alimento por todo el tamiz y todos los individuos pudiesen acceder a él.

Se les daba de comer 3 veces por semana *ad libitum*, los restos eran retirados y pesados para estimar el alimento ingerido.

Para llevar a cabo un análisis comparativo entre ambas dietas se utilizaban las siguientes tasas e índices:

$$\text{Tasa de crecimiento en concha (TCC)} = (L_2 - L_1) / \text{días de la experiencia} \times 1000$$

$$\text{Tasa de crecimiento específico (TCE)} = (\ln W_2 - \ln W_1) / t \times 100$$

$$\text{Ganancia en peso (\%)} = ((W_2 - W_1) / W_1) \times 100$$

$$\text{Índice de conversión de alimento} = \sum \text{Ingesta} / \Delta \text{Biomasa}$$

En donde L_1 y L_2 son las longitudes iniciales y finales respectivamente, $\ln W_1$ y $\ln W_2$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_1 el peso inicial y W_2 el peso final.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS v13 para Windows para comprobar si existen diferencias en cuanto al crecimiento mediante el test ANOVA.

RESULTADOS

La experiencia se prolongó por un total de 91 días y los datos, Tasas e Índices calculados se muestran en la Tabla XXXIV.

Los registros de temperatura y salinidad oscilaron entre 17,2-20,3°C y 31,3-33,8‰, respectivamente. Los valores de oxígeno siempre fueron superiores al 80%. El fotoperiodo fue de 6 horas de luz/18 horas de oscuridad, durante toda la experiencia.

Tabla XXXIV. Datos, Tasas e Índices obtenidos al comienzo y al final de la experiencia

Parámetros	Especie	
	D.M	D.M.C
Longitud inicial (mm)	34,84±2,22	34,45 ±2,39
Longitud final (mm)	39,69±2,61	40,01±2,92
Tasa Crecimiento en Concha ($\mu\text{m día}^{-1}$)	53,33	61,13
Tasa Crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$)	0,42	0,42
Peso inicial (g)	4,72±1,01	4,76±1,05
Peso final (g)	6,89±1,5	6,95±1,65
Ganancia en peso (%)	45,91	45,94
Índice Conversión Alimento	31,17	33,74
Alimento ingerido ($\text{mg Abalón}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	0,12	0,12
Mortalidad (%)	11,36	19,05

No se observaron diferencias significativas en cuanto a crecimiento o engorde entre ambas dietas (ANOVA, $p>0,05$). Esto se corrobora con que las tasas de crecimiento específico son exactamente iguales: $0,42\% \text{ día}^{-1}$.

Respecto al resto de datos, Tasas e Índices, son muy similares entre ambas dietas; tan solo se nota uno ligeramente distinto, la TCC, que da un valor favorable para la dieta con suplemento de cangrejo.

Por otro lado el test de Tukey muestra que existe crecimiento a lo largo de los 3 meses que duró la experiencia.

Respecto a las tasas de mortalidad podemos observar que fue superior con la dieta mixta de mejillón y cangrejo. Debemos resaltar la existencia de desoves durante la experiencia.

Otra forma de ver como no existen diferencias significativas en el crecimiento y/o engorde entre las dos dietas, es observar las gráficas de crecimiento y engorde, en ellas ambas dietas van prácticamente solapadas de principio a fin de la experiencia.

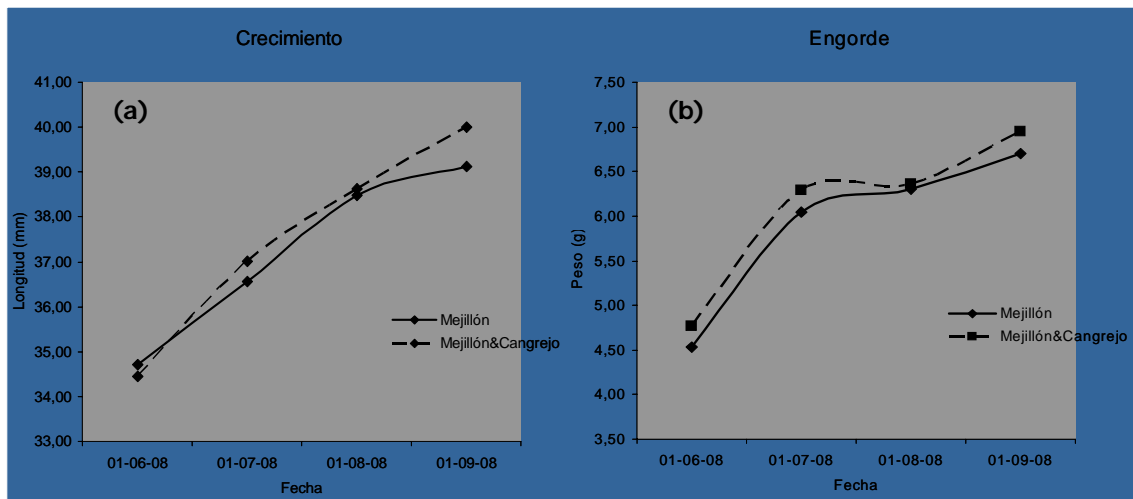


Figura 49. Crecimiento el longitud (mm) (a) y peso (g) (b) a lo largo de los meses de estudio

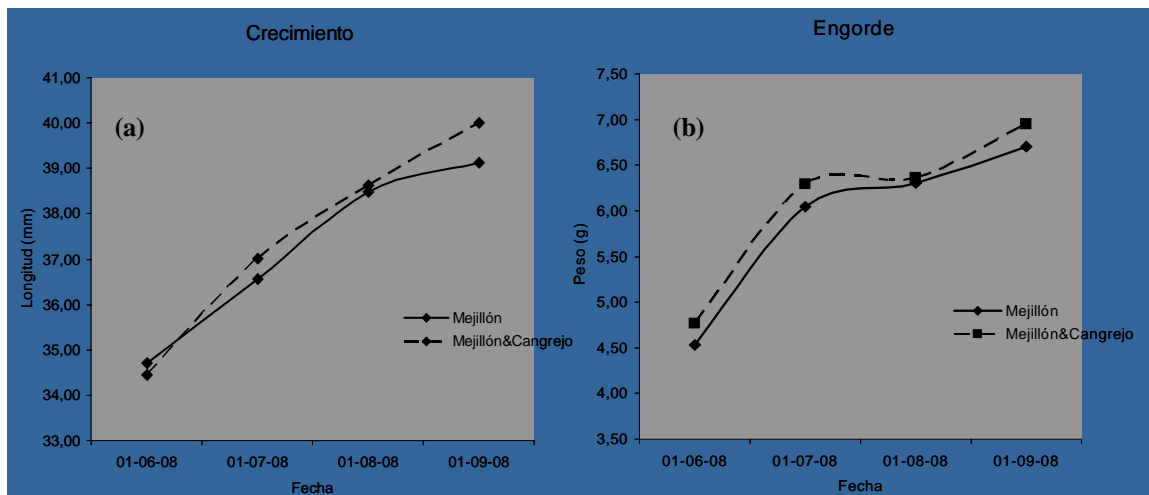


Figura 50. Crecimiento el longitud (mm) (a) y peso (g) (b) a lo largo de los meses de estudio

Tras observar los resultados obtenidos en esta experiencia se concluyó que no había ninguna diferencia ni en el crecimiento ni en el engorde en *H. tuberculata* con estas dos dietas.

Tras observar los resultados obtenidos en esta experiencia se concluyó que no había ninguna diferencia ni en el crecimiento ni en el engorde en *H. tuberculata* con estas dos dietas.

Destacar que en esta experiencia las Tasas de Crecimiento en Concha (TCC) difirieron ligeramente, aunque las tasas de Crecimiento Específico (TCE) fueron idénticas.

En este caso vemos que las TCC para el pienso D.M ($53,33 \mu\text{m día}^{-1}$) y para el pienso D.M.C ($61,13 \mu\text{m día}^{-1}$) fueron superiores a las obtenidas con algas frescas: en *Codium* ($52,38 \mu\text{m día}^{-1}$) y *Enteromorpha* ($41,84 \mu\text{m día}^{-1}$) (Guerra *et al*, 1996).

Las TCE para ambos piensos ($0,42 \% \text{ día}^{-1}$) fueron mayores que las obtenidas con ejemplares de la misma zona con otras macroalgas frescas: en *Laminaria* ($0,27\% \text{ día}^{-1}$), *Fucus* ($0,07\% \text{ día}^{-1}$) y *Ulva* ($0,36\% \text{ día}^{-1}$) (López *et al*, 2007). Esto puede deberse al incremento proteico y lipídico que puede aportar el mejillón y el cangrejo triturado del pienso semihúmedo respecto al alga en estado fresco. Por el contrario son muy inferiores respecto a las obtenidas con *Gracilaria cornea* ($1,47\% \text{ día}^{-1}$), *Hypnea musciformis* ($1,89\% \text{ día}^{-1}$) y *Hypnea spinella* ($2,66\% \text{ día}^{-1}$) (Viera *et al*, 2005). Esta diferencia puede deberse a que en este caso las especies utilizadas como alimento servían previamente como biofiltros, y por tanto poseían un mayor contenido en nutrientes, teniendo posiblemente éstos una proporción de proteínas y lípidos mejor que el que ofrece el mejillón o el cangrejo a ambos piensos.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados y de cara a pensar en la posible implantación de una explotación de cultivo de oreja de mar no interesaría utilizar el suplemento de cangrejo puesto que no se observa una clara mejoría ni en el crecimiento ni en el engorde del molusco, siendo por tanto un gasto añadido innecesario a la explotación. Además, esto se ve respaldado con que la mortalidad con la dieta de cangrejo es superior.

Cabe reseñar que a lo largo del experimento se produjeron varios desoves, el 28 y 30 de julio, el 8 de agosto y el 10 de septiembre. Teniendo en cuenta que las condiciones de temperatura, salinidad, y fotoperiodo fueron iguales a lo largo del experimento, el incremento de la mortalidad después de los primeros desoves, podría deberse, al menos en parte, al esfuerzo y gasto energético que les supone a los juveniles el hecho de reproducirse a una edad tan temprana.

Experiencia nº 6

INTRODUCCIÓN

En este estudio se compara el crecimiento que ofrecen dos macroalgas: *Ulva sp.* y *Palmaria palmata*, que se han secado a temperatura ambiente para mantener sus cualidades nutritivas. La elección de estas algas se basó en estudios previos que

confirmaron mejores resultados que otras presentes en la costa occidental asturiana (López-Ruiz *et al.*, 2007).

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia de engorde en cautividad se realizó con ejemplares de *Haliotis tuberculata coccinea*, procedentes del criadero del ICCM de Canarias y estabulados en el Centro de Castropol desde el mes de enero de este año 2008.

Se plantearon dos tipos de dieta: *Ulva sp* y *P. palmata* secas y trituradas. Para cada tipo de dieta se utilizó un cestillo con 12 ejemplares más dos réplicas, en las mismas condiciones, por lo que en total se dispusieron dos cestillos con 6 compartimentos y 72 ejemplares. La experiencia tuvo una duración de 90 días (29/10 del 2008 al 27/01 del 2009).

El alimento se suministró tres veces a la semana y se pesaba para el cálculo de la ingesta de alimento.

Los cestillos tenían un tamaño de 36x36 cm, dentro de los cuales se colocaron secciones longitudinales de tubos de PVC para el cobijo de las orejas. Éstos se asentaban en tanques de 1000 litros, a 40 cm del fondo de éste, en circuito semiabierto y con una renovación de agua de 1L/minuto. La regulación de la temperatura se realizó por medio de un tanque colector que permitió obtener valores de $16,0 \pm 1$ °C. La salinidad se mantuvo en rangos entre 28‰ y 34‰. El fotoperiodo fue natural.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS v13 para Windows para comprobar si existen diferencias en cuanto al crecimiento mediante el test ANOVA.

Para la determinación de los crecimientos y la eficiencia de los alimentos se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{Tasa de Crecimiento en Concha (TCC)} = (L_2 - L_1) / \text{días de la experiencia} \times 1000$$

$$\text{Tasa de Crecimiento Especifico (TCE)} = (\ln W_2 - \ln W_1) / t \times 100$$

$$\text{Ganancia en Peso (\%)} (GP) = ((W_2 - W_1) / W_1) \times 100$$

$$\text{Índice de Conversión de Alimento (IC)} = \sum \text{Ingesta} / \Delta \text{Biomasa}$$

En donde L_1 y L_2 son las longitudes iniciales y finales respectivamente, $\ln W_1$ y $\ln W_2$ son los logaritmos neperianos de los pesos inicial y final respectivamente, siendo W_1 el peso inicial y W_2 el peso final.

RESULTADOS

Los ejemplares utilizados en las distintas pruebas poseían la misma media de longitud y peso y la misma desviación estándar al inicio de la experiencia según el test ANOVA ($p > 0.05$).

Al final de la experiencia, las longitudes y pesos finales de los ejemplares no diferían entre las distintas réplicas ni entre las distintas dietas (ANOVA, $p > 0.05$), sin embargo sí que eran distintos a los iniciales (ANOVA, $p \leq 0.05$) demostrándose así que hubo crecimiento pero que éste no difirió significativamente, en cuanto al alimento suministrado.

*Tabla XXXV. Crecimiento, conversión de alimento y supervivencia de *Haliotis tuberculata coccinea* después de ser alimentados con las distintas especies macroalgas secas, durante 90 días.*

Parámetros	<i>Ulva sp. seca</i>	<i>P. palmata seca</i>
Longitud inicial (mm)	32,2±0,31	32,4±0,35
Longitud final (mm)	36,12±0,89	37,26±3,71
Tasa de crecimiento en concha ($\mu\text{m dia}^{-1}$)	43,55	54,0
Crecimiento específico (% dia^{-1})	0,21	0,34
Peso inicial (g)	4,65±1,66	4,71±1,59
Peso final (g)	5,57±1,29	6,46±1,97
Ganancia en peso (%)	19,78	37,15
Alimento ingerido	362,5	441,2
Índice de conversión de alimento	14,78	9,66
Mortalidad (%)	19,4	16,6

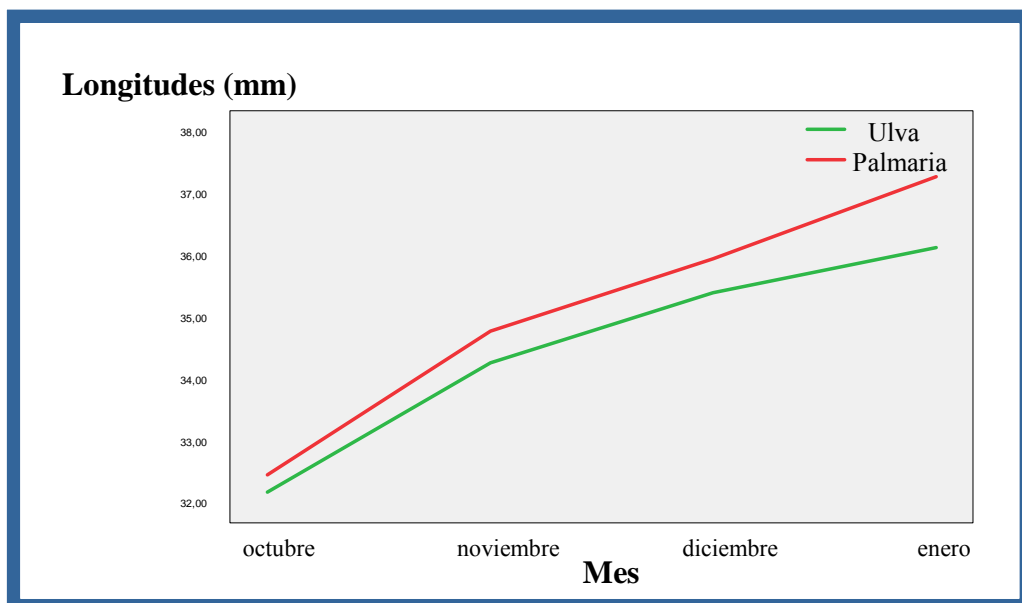


Figura 51. Crecimiento el longitud (mm) a lo largo de los meses de estudio

CONCLUSIONES

A pesar de que no se obtienen diferencias significativas entre ambas dietas si se observa que la macroalga *Palmaria palmata* ofrece mejores resultados, en todos los índices calculados: Crecimiento, Índice de Conversión y Supervivencia, que la macroalga *Ulva sp.* Los valores de crecimiento pudieran estar afectados por la existencia de varios desoves durante el engorde.

CONCLUSIONES GENERALES

Los malos resultados obtenidos en la dieta a base de *Fucus sp.* implican desechar este alimento para el engorde de las orejas de mar. El bajo crecimiento no llega a compensar las pérdidas de biomasa por mortalidad, dando lugar a un índice de conversión del alimento, negativo.

El pienso semihúmedo elaborado a base de agar, como aglutinante, presenta unas buenas condiciones de aceptabilidad así como estabilidad y permanencia en el agua. Al mismo tiempo nos permite disponer de alimento durante todo el año, mediante la utilización de macroalgas deshidratadas a temperatura ambiente, así como el poder incorporar otros compuestos que potencien el crecimiento.

Los mejores resultados en cuanto a crecimiento en talla y peso se obtienen con los piensos semihúmedos elaborados a base de agar, *Ulva sp* seca y mejillón fresco. El aporte extra de cangrejo o de gelatinas no ofreció mejoras en el crecimiento

Los mejores índices de conversión del alimento se obtienen con los dietas a base de algas secas (*Ulva sp* y *Palmaria palmata*). Sin embargo debemos de considerar que los valores obtenidos con las demás dietas incluían el agua utilizada para la elaboración del pienso.

El uso de algas secas, recolectadas en verano y deshidratadas a temperatura ambiente presenta la ventaja del almacenamiento, conservación y disponibilidad de alimento durante todo el año, libre de parásitos o competidores asociados a las algas frescas.

Ambas subespecies: *H.tuberculata* y *H tuberculata coccinea*, en igualdad de condiciones de cultivo y alimentación, no presentan diferencias significativas en cuanto crecimiento y engorde.

II.2.2. Producción de macroalgas (P₁)

II.2.2. CANARIAS (P₁)

La dieta de la oreja de mar estabulada en el ICCM se basa exclusivamente en macroalgas frescas producidas en sistemas de cultivo integrado. Con el fin de estandarizar y optimizar la producción de dichas macroalgas, se realizaron una serie de experiencias en las que se determinaron los parámetros óptimos de cultivos (densidad de inóculo y tasa de renovación), así como los índices de crecimiento (tasa de crecimiento y tasa de producción) para las macroalgas *Gracilaria cornea*, *Hypnea spinella* y *Ulva*

rigida (Fig 52), dietas experimentales para las futuras experiencias, en el sistema disponible en dicho Centro de Investigación.



Figura 52. *Gracilaria cornea* (A), *Hypnea spinella* (B) y *Ulva rigida* (C)

El máximo crecimiento (5.08, 6.01 y 8.63 gPS.m⁻²d⁻¹) y producción (37.02, 31.80 y 36.60 %d⁻¹) se obtuvo a una densidad de inóculo baja y una alta tasa de renovación para *G.cornea*, *H.spinella* y *U.rigida* respectivamente, observándose el máximo crecimiento en *U.rigida* y la mayor producción, en *G.cornea*.

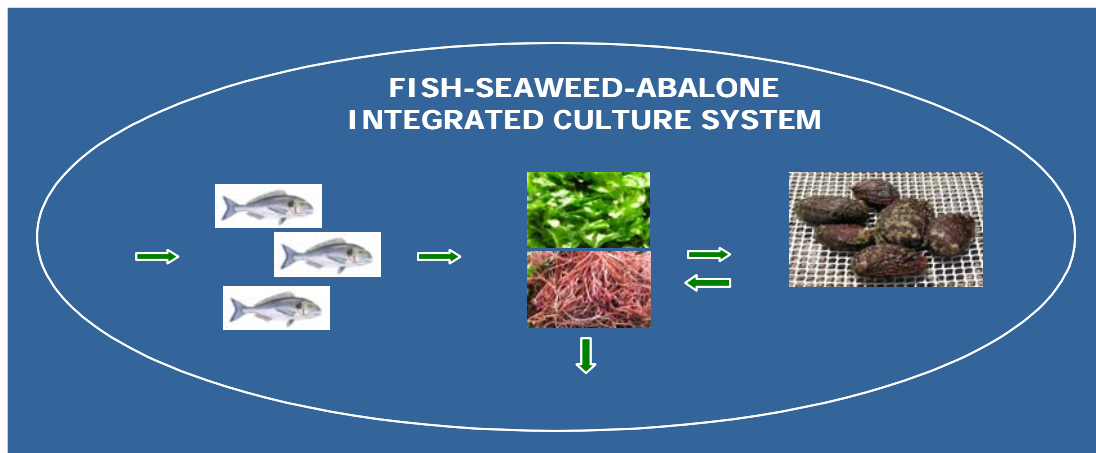


Figura 53. Sistema de producción integrado

La biomasa algal anual que se podría producir en el sistema de biofiltros del ICCM sería, en peso fresco, aproximadamente de 100 kg de *Ulva rígida*, 84 kg de *Hypnea spinella* y 90 kg de *Gracilaria cornea*, lo que serviría para alimentar un stock de unos 300 reproductores.

En el último año, debido al aumento cuantitativo de ejemplares de oreja de mar estabulados en el ICCM, y ante la imposibilidad de alimentación con la biomasa algal producida en los tanques existentes hasta ese momento en el ICCM se ha realizado una

reforma del sistema de producción de macroalgas. Se diseñó, compró e instaló un nuevo sistema de biofiltros, de mayor capacidad de producción, consistente en 6 tanques plásticos, circulares de 1500 litros de capacidad.

El nuevo sistema de biofiltros consiste en 6 tanques circulares de 1500L dispuestos en la parte exterior del edificio en condiciones naturales de luz y temperatura oscilando entre 18 y 24°C (Fig. 54).



Figura 54. Sistema actual de biofiltros para la producción de macroalgas

Biofiltros experimentales

Para las necesidades del presente proyecto, ha sido necesario el montaje de un sistema de biofiltros experimentales. Estos biofiltros de menor capacidad de agua (90 L) que los instalados para producir alimento (1500 L), se utilizan por un lado para mantener las cepas de macroalgas cultivadas en el ICCM, *Ulva rígida* y *Gracilaria cornea* y por otro, para modificar la composición proximal de las algas de cara a mejorar la calidad de la puesta (Tarea II.3.2 del presente proyecto).

El sistema de biofiltros experimentales se dispuso dentro del invernadero de producción de semillas de abalone (Fig. 55) y consta de 9 tanques de plástico circulares de color blanco de 90 L de capacidad (Fig. 56).



Figuras 55 y 56. Montaje e instalación definitiva de los biofiltros experimentales

El agua proviene del tanque de decantación de la nave de cultivos del ICCM, rica en nutrientes, y es bombeada por la misma bomba de los biofiltros de 1500 L. El agua entra sin filtrar a través de una tubería de tipo sanitario de PVC de 40 mm de diámetro y está distribuida en cada tanque por arriba, por reducciones hasta 20 mm y regulada por una llave

Cada uno de los tanques contiene aireación (que proviene del soplante general de la nave del cultivo del ICCM) mediante una tubería de 40 mm de diámetro que es reducida hasta 16 mm en la entrada del sistema de tanques. El suministro de aire se realiza desde el fondo de cada tanque y puede ser regulado mediante una llave. En el interior del fondo del tanque se dispuso una manguera de 16 mm agujereada con una pesa para crear el movimiento correcto en el cultivo de algas.

La salida del agua es por arriba con una manguera de 32 mm de diámetro. Los biofiltros se colocaron en una plataforma de madera, donde se colocó una canaleta que recoge el agua filtrada y junto con el agua de los biofiltros de 1500 L.

El mantenimiento de cepas de macroalgas, se realiza inoculando 1500 g de *Gracilaria cornea* y 600 g de *Ulva* rígida en dos tanques. Cada dos semanas se cosecha y el peso sobrante se utiliza para inocular los biofiltros de 1500L.

En la Tarea II.3.2. se explica el cultivo de macroalgas para variar su composición proximal de cara a mejorar la calidad de puesta de *H. tuberculata coccinea*.

TAREA II.3. Evaluación de los parámetros óptimos para el acondicionamiento de reproductores (P₁)

II.3.1. CANARIAS (P₁)

Con el fin de determinar los parámetros óptimos para el desarrollo gonadal y elaborar el protocolo de acondicionamiento de reproductores de *H. tuberculata spp.* se realizaron las actividades que se describen a continuación:

II.3.1.1. Determinar la temperatura idónea para la maduración gonadal *H. tuberculata* spp.

La presente tarea no se ha podido realizar tal y como estaba prevista, debido a que las instalaciones del ICCM no tienen potencia de electricidad suficiente para la instalación del sistema de enfriamiento del agua. En la actualidad siguen las conversaciones con la empresa UNELCO, distribuidora de electricidad en Canarias, para conseguir el aumento de potencia necesario.

Sin embargo, durante el año 2007 se realizaron desoves mensuales, inducidos con hidrógeno de peróxido, de ejemplares acondicionados en las instalaciones del ICCM en estado maduro.

Así mismo, se realizó un experimento adicional con el fin de determinar la dosis adecuada de aceite de clavo como anestésico para el manejo de reproductores.

II.3.1.2. Estudio mensual de inducción al desove de reproductores acondicionados en las instalaciones del ICCM

INTRODUCCIÓN

La producción artificial de semillas de abalone está llevándose a cabo con éxito en diversos países, tales como Japón (Kikuchi, 1963), Australia (Shepherd y Eran, 1983), Nueva Zelanda (Tong, 1979), Korea (Bang, 1977), Taiwán (Chen, 1981), Estados Unidos (McCormick y Hanh, 1983), Francia (Koike, 1978) e incluso en países donde se han tenido que importar especies alóctonas, tal es el caso de *H. rufescens* en Chile (Owen y col., 1984). Esta producción masiva de semillas ha sido posible gracias al control de la reproducción y cría larvaria de cada especie en condiciones de cultivo (ejemplo *H. discus hannai*, *H. tuberculata*, *H. iris*).

El término “acondicionamiento” se refiere a la inducción de la maduración gonadal y desove de animales adultos en condiciones de cultivo. Para que una gónada se desarrolle satisfactoriamente, los animales deben ser cultivados en buenas condiciones fisiológicas (ejemplo buena nutrición, calidad de agua, fotoperiodo adecuado y temperatura adecuada del agua) (Hanh, 1989). En el cultivo de *Haliotis* spp., el método de acondicionamiento más utilizado consiste en ofrecer a los animales adultos buenas condiciones de vida y una alimentación hasta la saciedad (Ault, 1985).

La observación de la gónada es suficiente para conocer el momento adecuado de inducción a la puesta en reproductores (Uki y Kikuchi, 1984). Ésta se examina apartando cuidadosamente el pie del animal en la parte derecha de la concha (Fig. 57). Una observación mensual de la gónada es adecuada para controlar el estado de maduración del stock de reproductores (Grant y Tyler, 1983).



Figura 57. Observación del estado de maduración gonadal en machos (gónada de color beige) y hembras (color gris)

Las gónadas aumentan en tamaño y peso hasta que los individuos alcanzan la fase de madurez pudiendo alcanzar, el peso de la gónada, un valor entre un 15 y 20% del peso total del individuo (Webber y Giese, 1969).

Una vez los reproductores han alcanzado la madurez suficiente para inducir la puesta, el método de inducción elegido debe ser efectivo. Entre los métodos utilizados en el cultivo de abalone se encuentran (Hanh, 1989):

a) *Deseccación*: Utilizado cuando los adultos están muy maduros (IG 3). Los animales se sacan del agua aproximadamente por una o dos horas. Este método no es muy eficiente ya que para ello las gónadas deben estar muy maduras y se expulsan gran cantidad de gametos inmaduros.

b) *Shock termal*: Los machos y hembras se ponen en el mismo tanque y se eleva la temperatura del agua bruscamente entre 3-6°C y luego se va bajando gradualmente (aproximadamente durante 3 horas) hasta alcanzar temperatura ambiente. Tampoco es un método aconsejable por la cantidad de gametos inmaduros liberados.

c) *Radiación ultravioleta*: Consiste en pasar el agua por una lámpara de ultravioleta. En *H. discus hannai* la puesta tiene lugar aproximadamente 2 horas después de la estimulación. Es un método cada vez más extendido y sobre todo se utiliza en Japón y Australia. La desventaja es la alta inversión inicial para montar el sistema. Las ventajas son que los gametos no se dañan, no se usan reactivos químicos y la calidad de los gametos es muy buena.

d) *Peróxido de Hidrógeno*: La liberación de gametos puede inducirse con la adición de peróxido de hidrógeno al agua de mar. Los machos y las hembras están en contenedores separados antes de añadir los reactivos al agua. Antes de añadir el peróxido se añade un buffer para controlar el pH. Después de añadir los reactivos, el desove tiene lugar aproximadamente en tres horas. La mayor desventaja es que los reactivos son dañinos para los gametos así que una vez que los adultos empiezan a expulsar los gametos, los contenedores se aclaran con agua de mar limpia (es recomendable tratarla con radiación ultravioleta). La mayor ventaja es que es un método de bajo coste, los reactivos se pueden almacenar fácilmente y da unos resultados satisfactorios.

En *H. tuberculata coccinea* no existe una información exhaustiva de la reproducción en condiciones de cultivo.

Peña (1985) probó satisfactoriamente la inducción a la puesta con hidrógeno de peróxido en ejemplares de esta especie procedentes de Canarias y acondicionados en Torre de la Sal (Castellón). Así mismo, en el presente proyecto se determinó el ciclo reproductivo en una población silvestre (Tarea II.1). Dicho estudio reveló que *H. tuberculata coccinea* posee un ciclo anual con puestas durante todo el año, observándose la máxima actividad reproductiva de la población entre agosto y febrero. Entre los factores que determinaron la reproducción se sugirieron la temperatura y las mareas vivas. De esta forma, se podrían obtener puestas a lo largo de todo el año si los ejemplares se adaptan correctamente a las condiciones de cultivo. Llegados a este punto y con el objetivo de conocer el comportamiento reproductivo anual de reproductores de *H. tuberculata coccinea*, se acondicionaron hembras adultas en la sala diseñada para tal fin en el ICCM (Tarea II.2., del presente proyecto) y se indujeron puestas mensualmente con hidrógeno de peróxido, los desoves se realizaron dos días antes de la luna llena a lo largo de un ciclo anual. Los resultados obtenidos, aportarán información en cuanto al comportamiento reproductivo de la especie en condiciones de cultivo (fecundidad, número de hembras que alcanzan la maduración, respuesta a la inducción al desove, número de actos de puesta) esenciales en la planificación de las tareas de un criadero de abalone.

MATERIAL Y MÉTODOS

Mantenimiento de reproductores

Hembras reproductoras, de 45 a 77 mm en longitud de concha, se separaron en 8 tanques rectangulares de 60 litros de capacidad (10 individuos por tanque). Cada uno de estos tanques consta de un doble fondo (cesta) del fondo real para separar las heces y restos de alimento de los animales, es además extraíble, lo que facilitó la limpieza del tanque (Fig. 58).



Figura 58. Tanques de acondicionamiento de reproductores utilizados en el presente estudio. Constan de una cesta para separar las heces y restos de alimento de los reproductores

Dentro de cada cesta se procedió a la colocación de dos tejas de PVC que proporcionaron a los individuos un adecuado refugio y protección de la luz. La renovación del tanque se fijó a una vez a la hora y el agua no se filtró.

La limpieza de los tanques se realizó una vez por semana, eliminando el alimento sobrante y añadiendo una mezcla de algas frescas (*Ulva rígida* y *Gracilaria cornea*), recién cosechadas procedentes del sistema de biofiltros (ver apartado II.2.2).

Selección de hembras

Con el fin de seleccionar las hembras en estado maduro e inducir la puesta, se eligió el método no invasivo propuesto por Uki y Kikuchi (1984). Este método clasifica el estado de maduración bajo la observación de la gónada y se basa en la premisa de que una gónada inmadura es de menor tamaño que una gónada madura.

IG=0: Hay diferenciación sexual y la gónada es mínima.

IG=1: Hay diferencia sexual con un ligero crecimiento de la gónada.

IG=2: La gónada es mayor, llegando hasta el límite de la concha

IG=3: La gónada es tan grande que incluso sobrepasa el límite de la concha.

Se realizó un muestreo de la gónada mensual, el mismo día de la inducción a la puesta (dos días antes de la luna llena) y se seleccionaron las hembras en estado IG 2 y 3.

Inducción a la puesta

El método elegido para la inducción al desove fue el peróxido de hidrógeno propuesto por Morse y *col.* (1977). Las hembras seleccionadas fueron depositadas individualmente en acuarios de plástico de 2 l de capacidad, en agua filtrada hasta 1 micra y esterilizada con radiación ultravioleta.

Se preparó una solución buffer para aumentar el PH del agua hasta 9,1. Para ello, se preparó una disolución de 2Mtris con 24,2 g de tris en 100 ml de agua destilada. Se añadieron 6,6 ml de esta solución por litro de agua en los acuarios de 2 litros. Así mismo, se preparó una solución a partir de peróxido de hidrógeno al 33%, con 20 ml de H₂O₂ en 80 ml de agua destilada. Se añadieron 4 ml de esta solución por litro de agua en los acuarios de 2 litros, 15 min después de añadir el buffer.

Los animales se dejaron en oscuridad con los reactivos por dos horas y media y posteriormente, se procedió a la limpieza de reactivos, llenando los acuarios con agua fresca y enjugando los animales.

Una vez se obtuvieron gametos suficientes (Fig. 59), los huevos se tamizaron en una malla de 500 µm para eliminar los desechos y se estimó la fecundidad de cada hembra como el número de huevos emitidos a las cinco horas de la inducción al desove. Para ello, se tomaron tres muestras de 3 ml cada una y se cuantificaron los huevos bajo una lupa binocular, después se estimó la fecundidad total mediante una regla de tres calculando la cantidad de huevos en el volumen final que contenían todos los huevos.

La temperatura del agua fue registrada en cada puesta. Así mismo se pesaron los individuos y se anotó el IG de cada hembra antes y 48 horas después de cada desove.



Figura 59. Expulsión de huevos a partir de una puesta inducida

RESULTADOS

Del total de hembras acondicionadas ($n= 80$), 43 alcanzaron un índice gonadosomático 2 o 3 en el periodo de estudio (Fig.60) y fueron 20 hembras las que respondieron al estímulo de hidrógeno de peróxido. Las restantes no llegaron a madurar. Se observaron los tres índices IG en todos los meses del año sugiriendo un ciclo reproductivo anual a lo largo de todo el año en condiciones de cultivo.

El mayor número de hembras en estado IG 2 o 3, se observó en el mes de marzo (19%) y, los meses de octubre y noviembre correspondieron al menor número (3%) (Fig. 60).

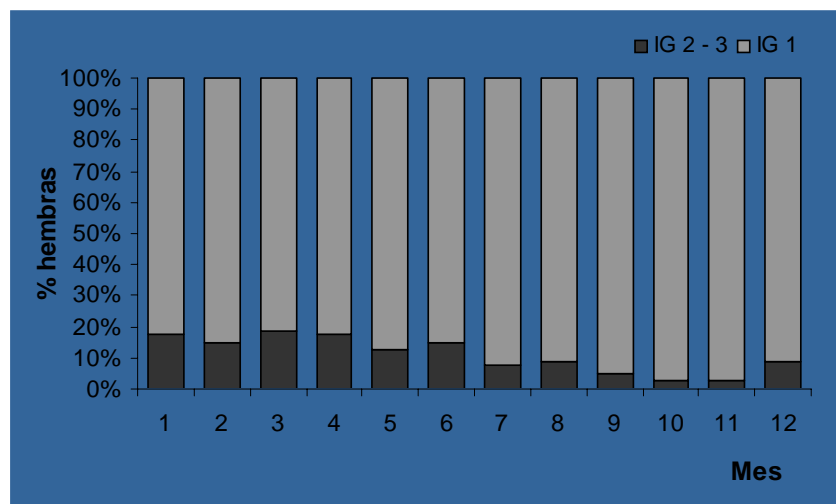


Figura 60. Porcentaje de hembras en estado 2 o 3 correspondiente a cada mes ($n= 80$)

En cuanto al porcentaje de hembras, en estado 2 o 3, que respondieron al estímulo de hidrógeno de peróxido se observó que, en el mes de mayo un 70% de las hembras desovaron, mientras que en los meses de abril, octubre y noviembre no se obtuvieron desoves inducidos satisfactorios (Fig. 61).

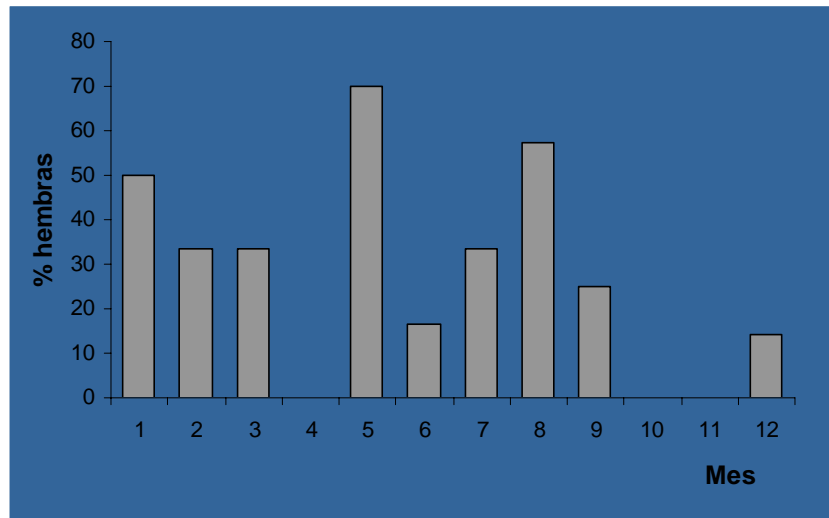


Figura 61. Porcentaje de hembras, en estado IG 2 o 3, que respondieron al estímulo de hidrógeno de peróxido

Así mismo, las hembras que respondieron al estímulo de hidrógeno de peróxido mostraron una pérdida de peso fresco a las 48 horas de la inducción al desove, cuantificada en $3,18 \pm 1,78$ g. La máxima cantidad de pérdida de peso correspondió a una hembra de 59 mm en longitud de concha, en el desove inducido en enero (6,96 g) y la mínima, correspondió a una hembra de 63 mm en el desove inducido en mayo (0,7 g). Respecto al índice visual IG, en la mayoría de los casos (65%) no se observó una pérdida de condición a las 48 h de la inducción a la puesta.

El promedio de la fecundidad fue de 214.486 ± 91.347 huevos para hembras entre 50 y 76 mm. La máxima fecundidad (496.125 huevos) se observó en una hembra de 66 mm en el desove del mes de mayo, y la mínima fecundidad (44.000 huevos) se observó en una hembra de 65 mm en el desove correspondiente al mes de agosto. En el periodo de estudio, un año, se obtuvieron un total de 7.078.042 huevos repartidos mensualmente como se muestra en la Tabla XXXVI.

Respecto al número de actos de puesta de cada hembra, se observó que del total de hembras que respondieron al estímulo de hidrógeno de peróxido ($n= 20$), un 60 % respondió una vez, mientras que un 20% respondió dos veces, un 15 % respondió tres veces y un 5 % respondió cuatro veces al año. La fecundidad no mostró ninguna relación respecto a la longitud de concha del individuo como se muestra en la Fig. 62.

Tabla XXXVI. Fecundidad observada en cada mes. Se indica el número de hembras que respondieron al estímulo de hidrógeno de peróxido y la temperatura registrada en la puesta

Mes	Fecundidad	Número hembras	Temperatura (°C)
Enero	1.291.194	7	19,5
Febrero	910.585	4	19,3
Marzo	1.111.686	5	19,1
Abril	0	0	19
Mayo	1.749.212	7	21
Junio	445.416	2	23
Julio	481.700	2	24
Agosto	471.374	4	25
Septiembre	280.875	1	23
Octubre	0	0	24
Noviembre	0	0	22
Diciembre	336.000	1	20

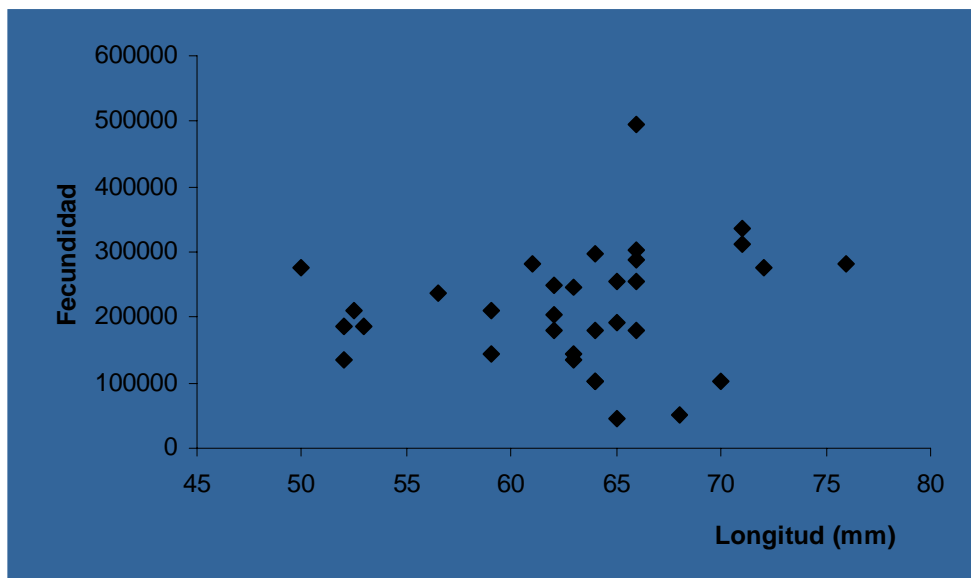


Figura 62. Fecundidad observada respecto a la longitud de concha (mm).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que se pueden obtener puestas durante todo el año en hembras de *H. tuberculata coccinea* acondicionadas en la nave de cultivo del ICCM. Este resultado está de acuerdo con lo descrito en el ciclo reproductivo de la Bahía del Castillo del Romeral, Isla de Gran Canaria (Tarea II.1 del presente proyecto),

sin embargo, en condiciones de cultivo, no se observó una máxima actividad de los reproductores entre los meses de agosto y febrero como ocurrió en la Naturaleza. En poblaciones silvestres, el mayor porcentaje de individuos en estado *maduro* (según la clasificación de estados de madurez propuesta por Capinpin y *col.* (1998)) ocurrió en octubre y noviembre (50 y 60%, respectivamente) (resultado de la Tarea II.1), mientras que en condiciones de cultivo los reproductores mostraron el menor porcentaje de individuos en estado IG 2 y 3. Sin embargo, el número de hembras acondicionadas durante el presente estudio (n= 80) fue menor que el número de hembras muestreadas en el estudio del ciclo reproductivo en la Naturaleza (Tarea II.1) (n= 207). Cabría esperar entonces, que al aumentar el número de hembras acondicionadas, se observara una mayor actividad de reproducción entre agosto y febrero, como ocurre en poblaciones silvestres.

Respecto al método elegido para la inducción al desove (hidrógeno de peróxido) el presente estudio mostró que fue efectivo en un 46% (de las 43 hembras en estado maduro observadas a lo largo del año, 20 respondieron al estímulo), resultado similar al obtenido por Peña (1985) (40%) en la misma especie y a la misma concentración de peróxido de hidrógeno y tris. Sin embargo, la eficacia mensual varió entre un 0% (en los meses de abril, octubre y noviembre) y un 70% (en el mes de mayo). Teniendo en cuenta, que el método propuesto por Uki y Kikuchi (1984) para la selección de hembras grávidas es, en cierto modo, subjetivo puesto que estima el tamaño del apéndice conical (órgano compuesto por el hepatopáncreas y la gónada), se podrían haber seleccionado hembras que en realidad no estuvieran totalmente en *estado maduro* (estado propuesto mediante observación histológica por Capinpin y *col.* (1998) y descrito en la Tarea II.1 del presente proyecto). Así mismo, ésta puede ser una de las causas que justifiquen que la relación entre fecundidad y talla del animal no fuera positiva, como se observó en la misma especie y otras especies de abalone (Newman, 1967; Hayashi, 1980; Clavier, 1992; Litaay y DeSilva, 2003; Tarea II.1 del presente estudio). Hayashi (1980) sugiere que entre los factores que afectan el acto de puesta de abalone, se encuentran: el grado de maduración de los reproductores, el grado de estímulo del desove y las condiciones medioambientales. En el presente estudio, la combinación de estos factores pudo resultar en la diferencia de fecundidad observada en hembras de talla similar a lo largo del año. Por ejemplo, en el mes de agosto una hembra de 65 mm en longitud de concha desovó 44.000 huevos a una temperatura de 25 °C, mientras que, una hembra de 66 mm en el mes de mayo desovó 495.000 huevos a 21 °C, resultado más acorde con lo encontrado en poblaciones silvestres (fecundidad observada entorno a esta talla en la Tarea II.1 del presente proyecto).

En el presente proyecto se sugirió, en base a los resultados obtenidos en la morfología de la gónada, que *H. tuberculata coccinea* es una especie desovadora parcial, presentando un desarrollo ovárico por grupos sincrónicos (Tarea II.1) como ocurre en otras especies de abalone (Tomita, 1967; Jebreen y *col.*, 2000; Fukazawa y *col.*, 2007). En este modelo ovárico coexisten una cohorte de oocitos grandes y otra de oocitos pequeños en una gónada madura, donde los oocitos, en fase vitelogénica, son expulsados en el presente acto de puesta, mientras que la cohorte de oocitos de menor tamaño queda retenida en la gónada hasta la siguiente puesta. El presente estudio confirma este resultado observándose que *H. tuberculata coccinea* es capaz de responder al estímulo de hidrógeno de peróxido dos, tres e incluso cuatro veces al año. En otras especies de abalone, *H. asinina* es capaz de desarrollar tres cohortes de oocitos

al año (Jebreen y *col.*, 2000), mientras que *H. discus hannai* desarrolla dos cohortes al año (Fukazawa y *col.*, 2007).

Con el objetivo de obtener una mayor fecundidad anual (7.078.042 huevos), es necesario aumentar el número de hembras acondicionadas. Así mismo, sería interesante probar otro método de inducción a la puesta, por ejemplo, agua con radiación ultravioleta. Este método fue descrito para el cultivo de abalone por Uki y Kikuchi (1982) y se basa en el hecho que la irradiación de UV causa una descomposición de la molécula de agua produciendo radicales libres de peróxido de hidrógeno y di-radicales de peróxido (Hanh, 1989) sin utilizar productos químicos como en el caso del método de hidrógeno de peróxido. Este método es menos agresivo que el de hidrógeno de peróxido sin embargo, su coste de equipamiento inicial encarece el proceso de inducción a la puesta (Hanh, 1989).

II.3.1.3. Estudio de la eficiencia del aceite de clavo en el manejo de reproductores de *H. tuberculata coccinea*

INTRODUCCIÓN

En el cultivo de abalone, hay muchas tareas que requieren un grado de sedación con la finalidad de facilitar el manejo de los animales sin dañarlos o estresarlos en exceso. Los abalones están bien adaptados a fijarse fuertemente al sustrato y teniendo en cuenta que poseen una baja capacidad de cicatrización y ausencia de un mecanismo de coagulación de la sangre (Armstrong y *col.*, 1971; Genade y *col.*, 1988), su manipulación mecánica (ejemplo uso de paletas o espátulas) causa muchas veces mortalidad debido a las heridas causadas en el músculo del pie. En este sentido, el uso de anestésicos es una alternativa más segura (White y *col.*, 1996).

A la hora de elegir un anestésico, hay que tener en cuenta ciertas consideraciones como son; la eficacia, el costo, la disponibilidad del producto, así como la toxicidad en el animal, los humanos y el medio ambiente (Soto y Burhanuddin, 1995). Varios anestésicos han sido sugeridos para el cultivo de abalone (Sagara & Ninomiya, 1970; Prince & Ford, 1985; McShane & Smith, 1988; Hanh, 1989; Tong *et al.*, 1992; White *et al.*, 1996; Aquilina & Roberts, 2000; Sharma *et al.*, 2003), sin embargo, la mayoría de ellos son productos químicos como el sulfato de magnesio, 2-phenoxyethanol, pentobarbitúrico y benzocaina.

El clavo (Fig. 63) es la flor seca de *Eugenia caryophyllata* y su principio activo es el eugenol. Desde tiempos ancestrales se ha utilizado en aromaterapias. Ha sido utilizado también como analgésico humano y se ha estudiado como fuente antimicrobiana contra bacterias presentes en la boca (Cai y Wu, 1996), se ha demostrado su poder fungicida (Martín y *col.*, 1996) y su actividad antioxidante en alimentos humanos comparable a la vitamina E (Kwang-Geun y Shibamoto, 2001), así mismo, es utilizado contra el asma y varias alergias por administración oral (Kim y *col.*, 1998).

En acuicultura, el aceite de clavo es considerado como un anestésico superior comparable a la benzocaina y MS-222 (Munday y Wilson, 1997; Keene y col., 1998). Considerando que es un producto natural y más barato que otros anestésicos utilizados en peces, ha recibido una especial atención en bibliografía (Endo y col., 1972; Hikasa y col., 1986; Soto y Burhanuddin, 1995; Cho y Heath, 2000; Wagner y col., 2002; Iversen y col., 2003; Pirhonen y Schreck, 2003; Wagner y col., 2003; Hoskonen y Pirhonen 2004; Cooke y col., 2004; Mylonas y col., 2005). Sin embargo, en el cultivo de moluscos, solamente se ha demostrado su efectividad en el pulpo común, *Octopus minor* (Seol y col., 2007) y la ostra, *Pinctada albina* (Norton y col., 1996).



Figura 63. Planta del clavo: *Eugenia caryophyllata*

El objetivo del presente estudio es evaluar la utilización del aceite de clavo como anestésico natural en *H. tuberculata coccinea*, comparando su efectividad con el anestésico comúnmente utilizado en el cultivo de abalone, 2-phenoxyethanol.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevo a cabo en julio de 2008, con ejemplares adultos de *H. tuberculata coccinea* en el ICCM. Los anestésicos utilizados fueron aceite de clavo a cuatro concentraciones y 2-phenoxyethanol a 2 ml / l (Tabla XXXVII).

Tabla XXXVII. Detalle de los anestésicos testados

Tratamiento	Distribuidor	Concentración final	pH final
2-phenoxyetano ¹	Panreac	2 ml / l	8,1
Aceite de clavo ¹	Guinama	0,1 ml / l	8,1
Aceite de clavo ¹	Guinama	0,3 ml / l	8,1
Aceite de clavo ¹	Guinama	0,5 ml / l	8,1

¹ el aceite de clavo es previamente mezclado con alcohol absoluto al 50%.

El estudio se realizó en acuarios transparentes de plástico de 2 l de capacidad equipados con dos refugios de PVC. El aceite de clavo y el 2-phenoxyethanol fueron dispensados directamente al agua de mar. En los refugios se dispusieron 30 animales por tratamiento (5 individuos por acuario), entre 42 y 80 mm en longitud de concha previamente etiquetados (Fig. 64). El experimento se llevó a cabo a temperatura ambiente (22,3°C) y antes y después de añadir los anestésicos se midió el pH. Los animales se mantuvieron como máximo 30 min en la solución.



Figura 64. Cubetas de experimentación con los animales dispuestos en los refugios

El tiempo de relajación se definió como el tiempo entre la introducción de los animales en los acuarios hasta que se desprendieron de los refugios (Fig. 65). Una vez los animales se desprendieron de los refugios, se limpiaron con agua para eliminar los restos de anestésicos y se trasladaron a otra cubeta con agua fresca y boca abajo, con la concha hacia arriba. El tiempo de recuperación se consideró aquel en el que los animales se dieron la vuelta (con la concha hacia abajo, posición normal) (Aquilina y Roberts, 2000). La mortalidad se controló durante 7 días. El experimento se realizó tres veces en las semanas consecutivas.



Figura 65. Animal desprendido del refugio por efecto del anestésico

Con el objetivo de evaluar la mejor concentración de aceite de clavo, los resultados fueron tratados con un análisis estadístico ANOVA de un factor, así mismo, se aplicó el test de Tukey para la comparación múltiple de medias ($P < 0,05$). Los datos fueron transformados a una función logarítmica (Zar, 1996). Finalmente el mejor resultado de aceite de clavo fue comparado con el resultado obtenido para el 2-phenoxyethanol.

RESULTADOS

Los resultados mostraron que tanto el 2-phenoxyethanol como el aceite de clavo, son anestésicos efectivos para *H. tuberculata coccinea*. La razón por la que dos individuos murieron en el tratamiento de aceite de clavo a 0,3 ml/l y 2-phenoxyethanol (Tabla XXXVIII), se debió a la manipulación con el uso de la espátula, al desprender los animales de los tanques de cultivo para pasarlos a los acuarios de experimentación.

Los tratamientos de 0,1 y 0,3 ml/l no anestesiaron a dos individuos después de 30 min (Tabla XXXVIII). Omitiendo estos animales en los análisis estadísticos, el tiempo de relajación del resto de animales tratados con aceite de clavo disminuyó al aumentar la concentración (855 ± 287 s en 0,1 ml/l; 786 ± 248 s en 0,3 ml/l; 536 ± 208 s en 0,5 ml/l y 472 ± 139 s en 0,7 ml/l). El análisis estadístico reveló diferencias significativas ($P < 0,05$) en las medias de las concentraciones mayores de aceite de clavo (0,5 y 0,7 ml/l) respecto a las concentraciones menores (0,1 y 0,3 ml/l) (Fig. 66).

Tabla XXXVIII. Respuesta de *H. tuberculata coccinea* a los anestésicos. El tiempo se representa en minutos

	2-phenoxyethanol 2 ml/l	Aceite de clavo ¹ 0,1 ml/l	Aceite de clavo ¹ 0,3 ml/l	Aceite de clavo ¹ 0,5 ml/l	Aceite de clavo ¹ 0,7 ml/l
Tiempo de relajación (min)	4,9 ± 0,9	> 30 ²	>30 ²	8,9 ± 3,5	7,9 ± 2,3
Tiempo de recuperación (min)	7,2 ± 3,6	3 ± 1,5 ³	2,4 ± 2,2 ³	2 ± 1,5	3,1 ± 2,3
Mortalidad después de una semana	1 ⁴	0	1 ⁴	0	0

1 el aceite de clavo fue mezclado al 50% con alcohol puro.

2 un individuo siguió adherido al refugio después de 30 min.

3 se omitió el animal que no se desprendió del refugio.

4 la causa de mortalidad fue una herida en el pie durante su manipulación.

El tiempo de recuperación no mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las diferentes concentraciones (181 ± 89 s en 0.1 ml/l; 143 ± 133 s en 0.3 ml/l; 121 ± 90 s en 0.5 ml/l y 186 ± 137 s en 0.7 ml/l) (Fig. 67).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el tiempo de relajación y recuperación, la concentración de aceite de clavo recomendada para anestesiarse individuos de *H. tuberculata coccinea* entre 42 y 80 mm en longitud de concha es 0,5 ml/l.

El tiempo de relajación observado con 2-phenoxyethanol fue menor (299 ± 56 s) y más disperso que el observado para el aceite de clavo a 0,5 ml/l (536 ± 208 s) (Fig. 66 y Tabla XXXVIII), sin embargo, el tiempo de recuperación fue superior (433 ± 215 s y 121 ± 90 s, respectivamente) y más disperso en el tiempo (Figura 67 y Tabla XXXVIII). Cualitativamente, el efecto de cada compuesto químico como relajante muscular fue similar, deponiendo el músculo del pie y el epipodio medio contraído y con segregación de mucosidad.

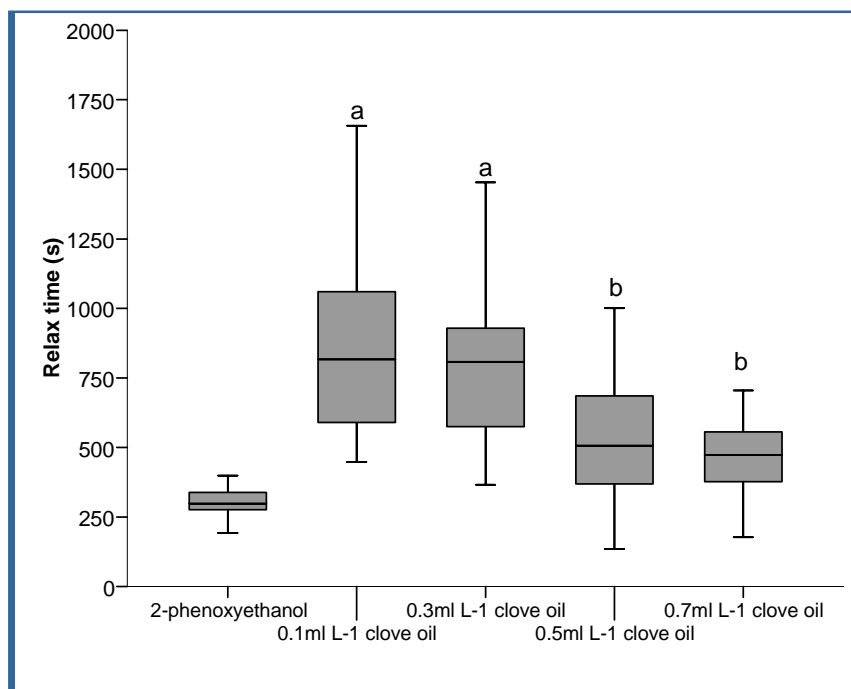


Figura 66. Tiempo de relajación (segundos) en los diferentes tratamientos. Las letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las diferentes dosis de aceite de clavo, se omitieron los animales que no se desprendieron de los refugios a concentraciones de 0,1 y 0,3 ml/l. El 2-phenoxyethanol no se consideró para el análisis estadístico

DISCUSIÓN

El tiempo de relajación observado en *H. tuberculata coccinea* para 2-phenoxyethanol ($4,9 \pm 0,9$ min) fue similar al observado por White y col. (1996) en *H. midae*, sin embargo, el tiempo de recuperación fue menor ($7,2 \pm 3,6$ min y $46,0 \pm 24,6$ min respectivamente).

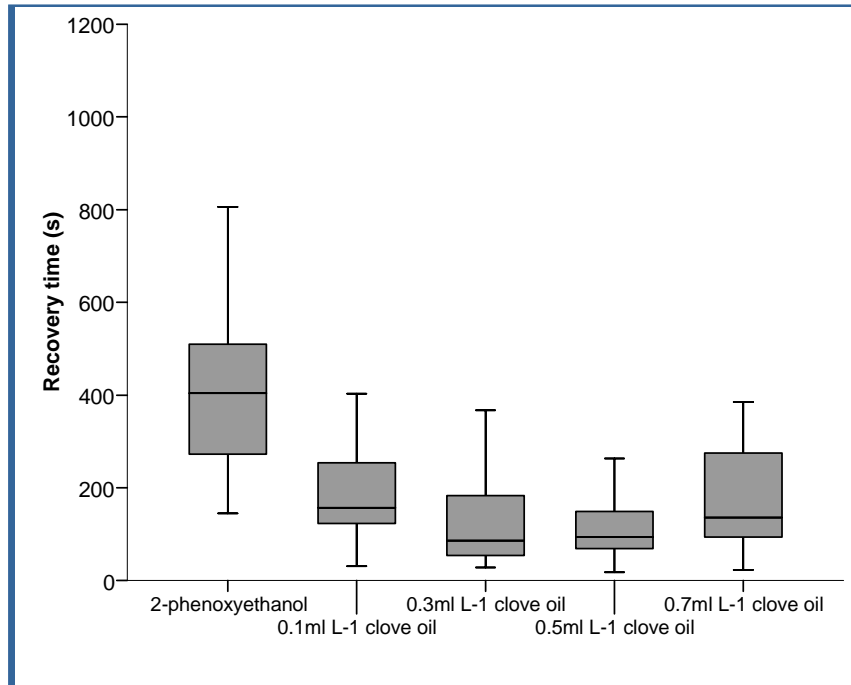


Figura 67. Tiempo de recuperación (segundos) en los diferentes tratamientos. El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las diferentes dosis de aceite de clavo, se omitieron los animales que no se desprendieron de los refugios a concentraciones de 0,1 y 0,3 ml/l. El 2-phenoxyethanol no se consideró en el análisis estadístico.

Los resultados del presente estudio mostraron que las diferentes dosis de aceite de clavo presentaron similares tiempos de recuperación ($P < 0,05$). Una situación similar fue encontrada por White y col. (1996) con los anestésicos $MgSO_4$ y 2-phenoxyethanol en *H. midae*. Sin embargo, el resultado esperado es que al elevar la dosis de aceite de clavo aumente el tiempo de recuperación como observan Seol y col. (2007) en el pulpo común (*Octopus minor*). Esto puede ser explicado en el hecho de que dosis altas de aceite de clavo anestesian los animales rápidamente, siendo éstos retirados del baño y depositados en agua limpia antes que los animales expuestos a dosis más bajas. El aceite de clavo es altamente lipófilo, en consecuencia, se adhiere al epitelio de las branquias penetrando rápidamente en el tejido del animal como una grasa (Stoskopf, 1993), una vez en la sangre, es absorbido por el cerebro (Summerfelt y Sith, 1990). En este sentido, Mylonas y col. (2005) consideran que el corto tiempo de exposición a dosis más altas de anestésico, en un experimento realizado a diferentes dosis de aceite de clavo en dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*), resulta en una menor cantidad de anestésico absorbido por el cuerpo del animal, acortando el tiempo requerido para eliminarlo de la sangre y en consecuencia, disminuyendo el tiempo de recuperación del animal una vez depositado en agua limpia. Este fenómeno podría ser similar en el abalón.

Basándonos en el hecho de que concentraciones de 0,1 y 0,3 ml/l de aceite de clavo no anestesiaron todos los animales a los 30 min y que, las concentraciones de 0,5 y 0,7 ml/l no mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) respecto al tiempo de relajación, la dosis recomendada de aceite de clavo para *H. tuberculata coccinea* es de 0,5 ml/l, para individuos entre 42 y 80 mm. Aunque, el tiempo de relajación observado a esta concentración fue superior al encontrado para el 2-phenoxyethanol ($8,9 \pm 3,5$ y $4,9 \pm 0,9$ min, respectivamente), fue más disperso en el tiempo. Consideramos este hecho una ventaja en términos de manejo de animales como por ejemplo en las tareas de etiquetado, clasificación de tallas, muestreos y análisis patológicos, ya que los individuos se desprenden de los refugios paulatinamente. El tiempo de recuperación de 0,5 ml/l de aceite de clavo fue más corto que el observado en el 2-phenoxyethanol ($2 \pm 1,5$ y $7,2 \pm$ min, respectivamente) siendo este hecho otra ventaja puesto que los animales se recuperan más rápidamente.

Como conclusión, los resultados obtenidos en este estudio demostraron que el aceite de clavo es un anestésico efectivo y eficiente en la relajación de *H. tuberculata coccinea*. Es más, es efectivo en una dosis 10 veces menor que el anestésico 2-phenyethanol comúnmente utilizado en el cultivo de abalone, su olor es agradable y no irritante y, como proviene de una planta es biodegradable.

II.3.1.4. Determinar la dieta idónea para el acondicionamiento de reproductores de *H. tuberculata spp.*

Ensayo comparativo con algas frescas y piensos comerciales en función del consumo, crecimiento y la calidad de puesta

INTRODUCCIÓN

El diseño de un protocolo adecuado de acondicionamiento de reproductores es esencial a la hora de desarrollar la industria del cultivo de abalone. La maduración gonadal y el asentamiento de larvas no son procesos estacionarios en el cultivo y dependen en gran medida del acondicionamiento de reproductores (Webber, 1970; Slattery, 1992).

Es sabido que lípidos específicos, como el ácido araquínódico, juegan un papel importante en el desarrollo de la gónada de abalone (Uki y Watanabe, 1992; Nelson y col., 2002). Así mismo, Litaay y DeSilva (2003) observan que a lo largo del ciclo reproductivo de *H. rubra* la composición proximal del ovario y la glándula digestiva varía en la cantidad total de lípidos y proteína. Estos autores muestran que durante la oogénesis y espermatogénesis, existe un incremento en la cantidad de lípidos y proteínas en la gónada, hecho demostrado también en otras especies de moluscos como almejas (Barber y Blake, 1991; Utting y Millican, 1998) y ostras (Soudant y col., 1996).

Estudios recientes, muestran que variaciones en los niveles de ácidos grasos poliinsaturados C₂₀, en diferentes algas utilizadas como alimento en el abalone, coinciden con variaciones de éstos ácidos grasos en el músculo del pie y la glándula digestiva indicando que, el tejido del abalone refleja directamente las dietas con las que son alimentados los animales (Nelson y col., 2002). En este sentido, numerosos equipos

de investigación han diseñado dietas formuladas y han realizado experimentos con diferentes macroalgas con el fin de incrementar la tasa de crecimiento en juveniles de abalón, sin embargo, estas dietas no son necesariamente adecuadas para su uso en animales seleccionados como reproductores con el propósito de obtener huevos y larvas de alta calidad (Daume y Ryan, 2004).

En un estudio realizado en *H. asinina*, Jackson y col. (2001) compararon diferentes dietas formuladas procedentes de Australia y observaron que las dietas que contenían menor cantidad de proteína (218g de proteína por Kg de pienso, en peso seco) frente a las dietas de mayor contenido en proteína (400 g por Kg de pienso en peso seco), mostraron deficiencias en la estructura de la gónada reflejado por la alta presencia de hemocitos, sugiriendo que se debía a una malnutrición o estrés de los animales. En condiciones normales, estas células solamente proliferan después de un acto de puesta y son las responsables de fagocitar los oocitos residuales no expulsados (Jebreen y col., 2000). Así mismo, Daume y Ryan (2004) analizan huevos de reproductores procedentes de una población silvestre, alimentados con algas frescas, y huevos de reproductores acondicionados con una dieta formulada, observando que los diferentes perfiles de ácidos grasos poliinsaturados presentes en las dos dietas, se refleja en el perfil de ácido grasos de los huevos.

La alimentación de abalón con macroalgas del género *Gracilaria* resulta en buenas tasas de crecimiento y supervivencia en especies como *H. asinina* (Bautista-Teruel y Millamena, 1999; Capinpin y col., 1999; Reyes y Fermin, 2003). Así mismo, Daume y Ryan (2004) observan que *Gracilaria flagelliformis* posee un alto contenido de ácido araquínódico, precursor de prostaglandinas, los cuales juegan un papel esencial en la reproducción de moluscos. La composición proximal de macroalgas puede alterarse en función de la concentración de nitrógeno utilizada en el medio de cultivo (Neori, 1996). Utting (1986) mostró que las semillas de la ostra (*Crassostrea gigas*) crecieron mejor con macroalgas enriquecidas en un medio rico en nitrógeno. Así mismo, Farias y col. (1997) encontraron que utilizando medios de cultivo enriquecidos en amonio en el cultivo de macroalgas, y alimentando con estas macroalgas individuos adultos de ostión (*Argopecten purpuratus*) se incrementa la fecundidad. En este sentido, la alteración del medio de cultivo en algas puede ser efectiva en el control de la calidad proximal de las algas, incrementando la eficiencia en criaderos de moluscos (Uriarte y Farias, 1995, 1999).

El presente estudio, se está realizando actualmente con el objetivo de observar cómo afecta la calidad de la dieta (a diferentes concentraciones de proteína), en la calidad de la puesta de reproductores de *H. tuberculata coccinea* (en términos de fecundidad, tasa de fertilización, diámetro de huevos y supervivencia larvaria hasta el momento de la fijación). Para ello, los reproductores son alimentados con *Gracilaria cornea*, cultivada en los biofiltros experimentales diseñados para tal fin (Tarea II.2.2 del presente proyecto) en diferentes medios de cultivo, y un pienso comercial específico para reproductores de abalone (Adam & Amos Foods Pty Ltd. Australia). El experimento comenzó en noviembre de 2008 y hasta el momento se ha realizado una puesta inducida en febrero de 2009, cuando animales de diferentes tratamientos llegaron a madurar. Sin embargo, no se han obtenido desoves en todos los tratamientos, por lo que los resultados que se presentan son preliminares. Se ha decidido seguir con la experiencia hasta que se consigan resultados en todos los tratamientos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo de macroalgas

El cultivo de la macroalga *Gracilaria cornea* se está realizando en los biofiltros experimentales diseñados y descritos en la Tarea II.2.2 del presente proyecto.

Con el fin de modificar el contenido en la cantidad proximal de proteínas (Neori, 1996), y conseguir tres niveles de proteína, dos veces en semana se cierra el flujo de agua y se añade amonio y fosfato en una relación 10:1 en cada tanque experimental (0,1, 1 y 3 g de amonio y 0,025, 0,25 y 0,75 g de fosfato, respectivamente) en 90 L de agua (Fig. 68). Cada tratamiento se está realizando por duplicado.



Figura 68. Pulsos de amonio y fosfato en el cultivo de *Gracilaria cornea*

El cultivo se realiza en condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura.

La limpieza de los tanques se realiza cada dos semanas. Así mismo, se controla el crecimiento de epífitos en *Gracilaria cornea*, limpiando manualmente los tallos de los racimos de alga.

Mantenimiento de reproductores

Se seleccionaron 120 hembras reproductoras de *H. tuberculata coccinea* (30 animales por tratamiento divididos en tres réplicas) entre 45 y 55 mm en longitud de concha. Estos animales proceden de la nave de cultivo del ICCM y son de primera generación.

Los animales son acondicionados en los tanques diseñados para tal fin y descritos en la Tarea II.2.1 del presente proyecto (Fig. 69).



Figura 69. Tanques de acondicionamiento de reproductores.

Los tanques constan de una cesta suspendida que permite separar los animales de las heces y restos de alimento, así mismo, están provistos de una teja de PVC que proporciona un refugio adecuado a los reproductores (Fig.70).



Figura 70: Hembras reproductoras de *H. tuberculata coccinea* dispuestas en la teja de PVC

La alimentación se realiza una vez en semana en los 3 tratamientos de *Gracilaria cornea*, y dos veces en semana en el tratamiento de pienso comercial específico para reproductores de abalone (Adam & Amos Foods Pty Ltd., Australia). Se pesa el alimento introducido y sobrante de cada tanque con el fin de determinar el consumo de las diferentes dietas, para ello, se escurre el alga y el pienso.

El cultivo se realiza en condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura y se mantiene una renovación del agua a la hora.

Se realizó un muestreo inicial y se realizará otro al final de la experiencia del 100% de los individuos, para determinar la evolución del parámetro morfométrico de la longitud total. Así mismo, se evaluará el crecimiento por determinación del peso húmedo del 100% de la población.

Análisis proximal de las dietas

Periódicamente se toman muestras de las algas utilizadas en la experiencia para evaluar su calidad nutritiva (composición lipídica, proteica, carbohidratos, humedad y cenizas). Las muestras de alga se enjuagan con agua dulce, y posteriormente con agua destilada, y se procede a su congelación a -80°C , en bolsas herméticas bajo atmósfera de nitrógeno, para su posterior análisis. Las muestras de alga fueron iofilizadas por al menos 24 horas. El análisis del contenido lipídico se realiza por el método propuesto por Folk y col. (1957) y el análisis del contenido en proteínas se realiza mediante la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1995), así mismo se estima el contenido en cenizas y humedad incinerando las muestras a 600°C por 24 horas y secando la muestras a 110°C por 24 horas, respectivamente.

Inducción a la puesta y cultivo larvario

Antes del comienzo de la experiencia, se indujo la puesta de todas las hembras seleccionadas en el presente estudio, con el fin de obtener el mismo grado de madurez sexual. El método elegido fue el descrito por Uki y Kikuchi (1982) con agua irradiada con luz ultravioleta.

Durante el transcurso del experimento se controla el grado de madurez sexual mediante el método descrito por Uki y Kikuchi (1984). Este método clasifica el estado de maduración bajo la observación de la gónada y se basa en la premisa de que una gónada inmadura es de menor tamaño que una gónada madura.

IG=0: Hay diferenciación sexual y la gónada es mínima.

IG=1: Hay diferencia sexual con un ligero crecimiento de la gónada.

IG=2: La gónada es mayor, llegando hasta el límite de la concha

IG=3: La gónada es tan grande que incluso sobrepasa el límite de la concha.

Una vez las hembras alcanzan el estado IG 2 y 3 se procede a la inducción de la puesta por el método radiación ultravioleta dos días antes de la luna llena. Para ello, se trasladan las hembras de los diferentes tratamientos a tanques que poseen un sistema de filtración de agua de 5 y 1 micra y una lámpara de ultravioleta.

Así mismo se inducen a la puesta, machos en estado maduro procedentes del stock de reproductores de la nave de cultivo del ICCM, con el fin de obtener esperma. Los huevos emitidos en la puesta son fertilizados en relación 10 espermatozoides por huevo, observado bajo una lupa binocular.

La eclosión se realiza para cada replicado en bandejas de 500 cm x 20 cm y una vez las larvas han eclosionado, se trasladan a los tanques de cultivo larvario descritos en la Tarea III.3 del presente proyecto.

Calidad de la puesta

Con el fin de evaluar la calidad de la puesta en los diferentes tratamientos, se procede a calcular los siguientes índices para cada replica:

Fecundidad: número de huevos expulsados en la inducción a la puesta.

Tamaño del huevo: se miden un total de 50 huevos.

Tasa de fertilización: Porcentaje de huevos fertilizados después de hora y media de ser fertilizados.

Tasa de eclosión: Porcentaje de huevos eclosionados a las 24 horas.

Supervivencia larvaria en estado larvario pediveliger. Estado de la larva de *H. tuberculata coccinea* descrito en la Tarea III.1.1. del presente proyecto, justo antes de la fijación.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los índices de la calidad de la puesta se tratarán con un análisis estadístico ANOVA de un factor, así mismo, se aplicará el test de Tukey para la comparación múltiple de medias ($P < 0,05$).

RESULTADOS PRELIMINARES

Análisis proximal de las dietas

Los resultados obtenidos, hasta el momento, en la dietas de los diferentes tratamientos se muestran en la Tabla XXXIX.

Tabla XXXIX. Análisis proximal de Gracilaria cornea iofilizada procedente de diferentes medios de cultivo (g/100 g en peso seco)

<i>Tratamiento</i>	<i>Proteína</i>	<i>Lípidos</i>	<i>Cenizas</i>	<i>Carbohidratos</i>	<i>Humedad</i>
<i>G. cornea (0,1 g NH₄)</i>	8,57	1,82	42,34	47,27	6,7
<i>G. cornea (1 g NH₄)</i>	24,92	2,24	38,70	34,14	6,5
<i>G. cornea (3 g NH₄)</i>	29,06	2,79	40,71	27,44	7,1
<i>Pienso comercial</i>	36,52	4,72	8,46	50,3	15,4

Se observa que al aumentar la cantidad de amonio y fosfato en el medio de cultivo 0,1: 0,025, 1:0,25 y 3: 0,75 (relación amonio: fosfato) *Gracilaria cornea* aumenta la cantidad de proteína en su tejido (8,57, 24,92 y 29,06 g/ 100 g de peso seco, respectivamente) y disminuye la cantidad de carbohidratos (47,27, 34,14 y 50,3 g/100 g de peso seco, respectivamente). El pienso comercial es el que mayor porcentaje de proteína, lípido y carbohidratos posee y menor contenido en cenizas.

Calidad de la puesta

Se procedió a la inducción de la puesta de los tratamientos en diferentes medios de cultivo de *Gracilaria cornea* dos y un día antes de la luna llena y el mismo día de la luna llena en el mes de febrero (días 7, 8 y 9 de febrero de 2008), mediante el método de radiación ultravioleta. Los individuos alimentados con pienso, hasta la fecha, no han alcanzado la madurez sexual IG 2-3.

*Tabla XL. Fecundidad obtenida en la puesta inducida ($T = 18,5^{\circ}\text{C}$) en el mes de febrero de 2008 en los diferentes tratamientos de *Gracilaria cornea*.*

<i>Tratamiento</i>	<i>Réplica</i>	<i>Fecundidad</i>	<i>Número de hembras</i>
<i>G. cornea (0,1 g NH₄)</i>	1	561.666	2
	2	273.332	1
	3	132.500	1
<i>G. cornea (1 g NH₄)</i>	1	11.500	1
	2	295.833	1
	3	0	0
<i>G. cornea (3 g NH₄)</i>	1	0	0
	2	335.547	1
	3	4.333	1

Los datos de fecundidad obtenida se muestran en la Tabla XL. Hasta la fecha, el tratamiento con más fecundidad es el de *Gracilaria cornea (0,1 g NH₄)* (967.498 huevos) seguido del tratamiento de *Gracilaria cornea (3 g NH₄)* (339.880 huevos) y de *Gracilaria cornea (1 g NH₄)* (307.333 huevos).

Los resultados preliminares obtenidos en el tamaño del huevo para cada tratamiento mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el tratamiento de *Gracilaria cornea (0,1 g NH₄)* ($202,51 \pm 10,63$ micras) y *Gracilaria cornea (3 g NH₄)* ($209,37 \pm 13,46$ micras) como se muestra en la Tabla XLI. Sin embargo, el tratamiento de *Gracilaria cornea (0,1 g NH₄)* ($205,91 \pm 12,60$ micras) no mostró diferencias significativas con los dos tratamientos mencionados anteriormente ($P < 0,05$).

Tasa de alimentación

La tasa de alimentación considerada como gramos de dieta ingerida cada semana en cada réplica de tratamiento se muestra en la Tabla XLII. Se observa que al aumentar la cantidad de proteína en *Gracilaria cornea*, 8,57, 24,92 y 29,06 g / 100g en

peso seco, aumenta los gramos ingeridos por reproductores de *H. tuberculata coccinea* $50,8 \pm 16,77$, $81,16 \pm 17,13$ y $85,9 \pm 15,63$ g semana⁻¹, respectivamente.

*Tabla XLI. Tamaño del huevo (media \pm desviación estándar) en la puesta inducida ($T = 18,5^{\circ}\text{C}$) en el mes de febrero de 2008 para los diferentes tratamientos de *Gracilaria cornea*. El tamaño se muestra en unidades de micras. Las letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$)*

<i>Tratamiento</i>	<i>Tamaño huevo (μ)</i>
<i>G. cornea (0,1 g NH₄)</i>	$202,51 \pm 10,63^a$
<i>G. cornea (1 g NH₄)</i>	$205,91 \pm 12,60^{a,b}$
<i>G. cornea (3 g NH₄)</i>	$209,37 \pm 13,46^b$

Tabla XLII. Gramos de dieta ingerida semanalmente en las diferentes replicas de los tratamientos

<i>Tratamiento</i>	<i>gr de dieta ingerida semanalmente</i>
<i>Pienso comercial</i>	$11,81 \pm 2,15$
<i>G. cornea (0,1 g NH₄)</i>	$50,8 \pm 16,77$
<i>G. cornea (1 g NH₄)</i>	$81,16 \pm 17,13$
<i>G. cornea (3 g NH₄)</i>	$85,9 \pm 15,63$

DISCUSIÓN

Los resultados presentados son preliminares puesto que la experiencia no ha concluido, por lo que no se procederá a la discusión de los mismos.

Línea 3: Optimización de las técnicas de producción de semilla

TAREA III.1. Estudio del desarrollo larvario. Aplicación de técnicas de producción larvaria a escala piloto (P₁, P₂, P₃)

III.1. CANARIAS (P₁)

Instalación de tanques de cultivo larvario

Para la adecuación de las instalaciones a las necesidades requeridas por el cumplimiento de las tareas del proyecto, fue necesaria la realización del diseño de la instalación destinada al cultivo de larvas (Fig 71). La instalación consta de doce tanques de fibra de vidrio, de 100 litros de volumen (Fig.66). En el interior del tanque se insertan unos tamices de un volumen de 40 litros. Estos tamices tienen una malla de 125 micras que permiten mantener las larvas en el tanque mientras el cultivo se realiza en circuito abierto.

En esta fase del cultivo, es especialmente importante la calidad del agua. Se diseñó e instaló un sistema de filtración del agua consistente en una filtración mecánica a través de filtros de cartucho hasta 1µm y un módulo de esterilización-desinfección de Ultra Violeta (WEDECO) (Fig73)

El agua entra filtrada a una micra y esterilizada por lámpara UV a través de una tubería de tipo sanitario de PVC de 40 mm de diámetro y está distribuida en cada tanque, por arriba, a través de una entrada de agua de polipropileno de 10mm de diámetro regulada con una llave. El nivel de agua se controla con un tubo de nivel exterior al tanque y el desagüe de todos los tanques se realiza por debajo de los mismos.

Cada uno de los tanques consta de un aireador de piedra porosa conectado a una tubería flexible de polietileno de 6 mm de diámetro, a su vez conectada a una tubería general de polietileno de 32 mm de diámetro. El sistema de aireación dispone de llaves de plástico que permiten regular el flujo.

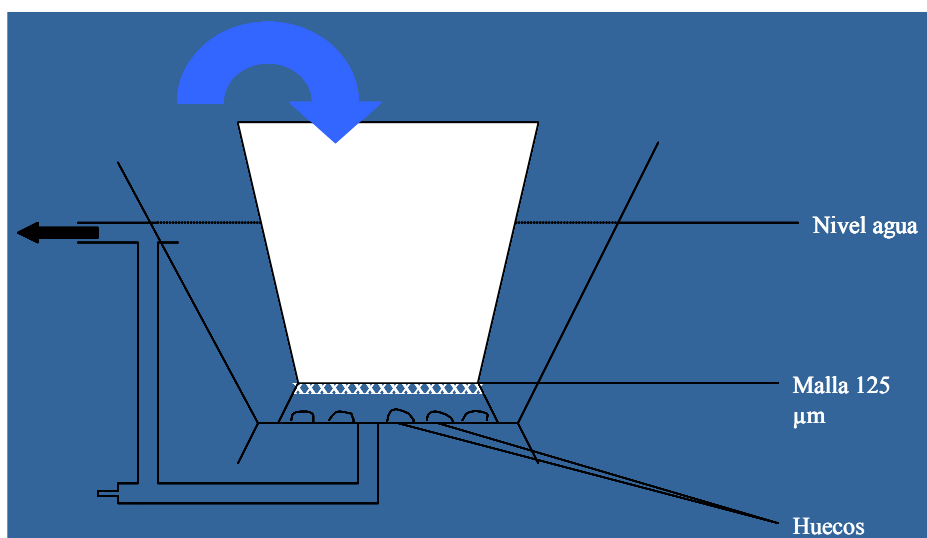


Figura 71. Diseño del tanque de cultivo larvario de oreja de mar



Figuras 72 y 73. Tanques de cultivo larvario y sistema de filtración y esterilización U.V.

III.1.1. Determinar el momento idóneo de transferencia de las larvas a sustratos de fijación (P_1)

INTRODUCCIÓN

El ciclo de vida de la oreja de mar se divide en diferentes fases: larvaria, la post-larvaria, la juvenil y la adulta. El desarrollo larvario se realiza de manera gradual y progresiva, pudiéndose identificar varios estadios de desarrollo a lo largo del proceso.

El grado de desarrollo larvario se determina por el tiempo necesario para que puedan observarse en la larva diversas características distintivas (Hahn, 1989). Para *Haliotis discus hannai*, Ino (1952), identificó varias características de los diferentes estados de desarrollo larvario. Estas características morfológicas, así como su orden de aparición a lo largo del desarrollo larvario, se han considerado como referencia para el estudio del desarrollo larvario de otras especies de *Haliotis* (Oba, 1964; Leighton, 1974; Seki and Kan-no, 1977; Koike, 1978; Holsinger, 1984; Owen, *et al.*, 1984; Peña, 1984, 1986).

El estado larvario empieza con la fertilización y termina con la formación del cuarto túbulo en los tentáculos cefálicos, si bien las larvas se consideran preparadas para la fijación con la aparición del tercer túbulo, momento en el que empiezan a explorar el sustrato (Hahn, 1989).

Existe un gran interés por el desarrollo de las técnicas de cultivo de la oreja de mar en Canarias, por un lado debido a que este recurso tiene un valor elevado en el mercado y por otro, a que existen posibilidades de recuperación de las poblaciones naturales a través de acciones de repoblación.

Se han llevado a cabo diversos estudios de fisiología y comportamiento de la especie (Peña, 1986; Toledo, *et al.*, 2000; Viera, *et al.*, 2003, 2005), pero la producción de semilla, sigue siendo el cuello de botella para llegar a una producción comercial de la misma.

Los estudios existentes relativos al desarrollo embrionario y larvario siguen siendo insuficientes para el desarrollo de técnicas de producción larvaria. (Peña, 1986), describió de forma parcial el desarrollo embrionario del *Haliotis tuberculata coccinea*, si bien lo realizó a una temperatura de 15°C, fuera del rango de la propia del entorno natural de esta sub-especie (18-24°C).

Consecuentemente, el presente estudio pretende estudiar la totalidad del desarrollo embrionario y larvario de *Haliotis tuberculata coccinea*, en condiciones naturales, describiendo e ilustrando por primera vez, con soporte fotográfico, las características morfológicas de cada etapa y el tiempo requerido para su aparición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reproductores de *Haliotis tuberculata coccinea* se mantuvieron en la oscuridad en tanques de 60-l, en circuito abierto, en el Instituto Canario de Ciencias Marinas. La temperatura del agua durante el experimento, realizado en Noviembre 2005, fue de 23±0.5 °C. Los reproductores fueron alimentados, dos veces por semana, con una dieta mixta de *Ulva rigida*, *Gracilaria cornea* e *Hypnea spinella*. Aquellos que presentaron gónadas maduras en estadio 3 (Ebert and Houk, 1984), fueron inducidos a la puesta.

Ocho machos y catorce hembras (58.2±4.54 mm y 32.9±8.36 g) se dividieron en dos acuarios de 10-l, llenados de agua filtrada a 1µm y esterilizada por luz ultravioleta, para inducirlos a la puesta de forma artificial según el método del peróxido de hidrogeno (Morse, *et al.*, 1977). Los acuarios se mantuvieron en la oscuridad durante el desove.

Los oocitos obtenidos se recolectaron y fertilizaron, durante 30 minutos, en recipientes de 10-l, con una concentración final de esperma de 10⁵/ml. Una vez fertilizados los huevos se enjuagaron para eliminar el exceso de esperma y se estimó la tasa de fertilización, contabilizando el número de huevos en división a la hora siguiente a la fertilización. La tasa de fertilización se estimó con tres muestras de 4 ml.

Los huevos se mantuvieron en condiciones estáticas hasta el desarrollo de la trocófora, estadio a partir del cual las larvas fueron transferidas a tanques de cultivo larvario de 100-l, a una densidad de 10 larvas/ml. El cultivo larvario se realizó con agua filtrada a 1µm y esterilizada por luz ultravioleta.

La observación del desarrollo embrionario y larvario se realizó bajo microscopio Leitz DMRBE (Leica, Wetzler, Germany) a 400 X de aumento. El estudio se realizó desde la fertilización y de forma continuada durante las 62h siguientes hasta la aparición del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos. Todas las observaciones se realizaron con larvas recolectadas regularmente en los tanques de cultivo larvario.

Las fotografías se realizaron con una cámara digital (Evolt, E-300, Olympus) conectada al microscopio. Las dimensiones de las larvas se midieron a partir de las fotografías.

RESULTADOS

La expulsión de gametos se observó a las 2 horas después de la inducción para las hembras y a la hora y media para los machos. La tasa media de fertilización obtenida una hora después de la fertilización fue del $77\pm 3.6\%$.

Los huevos de *H. tuberculata coccinea* presentaron una coloración violeta oscura y las larvas un pie, *velum* y tentáculos cefálicos de color naranja-amarillo y una masa visceral de color violeta oscuro.

La talla media del huevo sin fertilizar fue $196\pm 8 \mu\text{m}$. Después de la fertilización esa medida incrementó hasta $205\pm 8 \mu\text{m}$ y se mantuvo hasta la eclosión. La longitud y anchura de la larva trocófora fueron $166.6\pm 7.6 \mu\text{m}$ y $124.7\pm 4.75 \mu\text{m}$, respectivamente. Una vez que la concha larvaria terminó de formarse y hasta la aparición del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos, las longitudes y anchuras de las larvas se mantuvieron constantes con medidas respectivas de $216.6\pm 5.3 \mu\text{m}$ y $172\pm 8.8 \mu\text{m}$.

Se identificaron treinta y nueve estadios larvarios desde la fertilización hasta la aparición del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos.

La tabla XL presenta el tiempo requerido para la aparición de cada etapa de desarrollo a un temperatura de $23\pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$.

Veinticinco minutos después de la fertilización (estadio 1) apareció el primer corpúsculo polar (estadio 2) seguido del segundo (estadio 3) (Fig. 74 A&B). A continuación aparecieron las primeras divisiones a lo largo del eje vertical del huevo (estadios 4 y 5) seguidas de la tercera encima del eje horizontal (Fig. 74 C&D). A la tercera división se pudieron diferenciar micrómeros y macrómeros hasta llegar al estadio de gástrula con unas divisiones en espiral y de manera desigual (estadios 6 a 11) (Fig. 75 A a D y Fig. 76 A). Al estadio 12, aparecieron cilios en la parte superior del embrión, causando, por su movimiento, la rotación del embrión dentro de la membrana del huevo (Fig. 76 B).

El *stomodeum* apareció al estadio 13 y la corona prototrocal con sus cilios se completó durante el estadio 14 (Fig. 76 C&D). En este momento, la larva tiene ya la apariencia de una trocófora, pero aún dentro del huevo. La membrana del huevo se afina, y la larva trocófora, con la ayuda del movimiento de sus cilios apicales, logra romperla, eclosionando y comenzando así la natación (estadio 15) (Fig. 77 A).

Las trocóforas se observaron desplazándose en grupos, formando espirales del fondo del tanque hasta la superficie. A partir de la eclosión se observó el principio de la secreción de la concha larvaria (estadio 16) (Fig. 77 B). Las larvas se consideraron veliger con el aplanamiento de la región apical y el *velum* completo con todos los cilios (estadio 17) (Fig. 77 C). Las siguientes etapas fueron la formación del músculo retractor (estadio 18) y su unión, a través del tegumento, a la concha larvaria (estadio 19) (Fig. 77 D). A lo largo del estadio 20, la masa del pie empezó a formarse en la parte superior de la concha y apareció la mancha ocular (estadio 21) (Fig. 77 D). A continuación se completó la concha larvaria formándose de la parte dorsal hacia la ventral, hasta cubrir por completo la parte de la larva situada por debajo del velo (estadio 22) (Fig. 78 A). Durante la torsión la masa cefálo-pedal realizó primero una torsión de 90 grados (estadio 23) (Fig. 78 A), seguida de la rotación de la futura región de la boca y del pie, hasta llegar a una torsión final de 180 grados (estadio 24) (Fig. 78 B).

Tras la torsión, se observaron espinas al final del *metapodium* (estadio 25) y el desarrollo del opérculo (estadio 26) (Fig. 78 C). En esta fase del desarrollo, la masa del pie puede retractarse dentro de la concha que puede estar cerrada por el opérculo.

En orden sucesivo, se desarrollaron cilios muy finos, que empezaron a latir, en el pie (estadio 27) (Fig. 78 D), una ranura apareció en el *velum* (estadio 28), se formó el *propodium* (estadio 29) donde crecieron cilios (estadio 30) y se desarrolló un tentáculo cefálico sobre el *velum* (estadio 31) (Fig. 79 A&B). Aparecieron cilios en la cavidad del manto y empezaron a latir (estadio 32) (Fig. 79 C). Se observó el apófisis en el *propodium* (estadio 33) (Fig. 79 D) y un par de tentáculos epipodales se formaron a cada lado del pie (estadio 34) (Fig. 80 A). A partir de este momento las larvas, aún con el velo y en natación, empezaron la exploración del sustrato con el pie. Apareció el otolito (estadio 35), y aparecieron espinas cortas en los tentáculos cefálicos (estadio 36) seguido de la protuberancia del hocico por debajo del velo (estadio 37) (Fig. 80 B a D). Dos túbulos aparecieron en los tentáculos cefálicos (estadio 38) seguidos de la aparición de un tercero (estadio 39) (Fig. 81 A&B).

DISCUSIÓN

El tiempo necesario de los ejemplares de *H. tuberculata coccinea* para comenzar a desovar fue comparable al observado por Peña, (1986). El color de los huevos y de las larvas varía entre especies de *Haliotis*. Por ejemplo *H. rufescens*, *H. cracherodii*, *H. walallensis*, *H. assimilis* y *H. kamtschatkana* poseen huevos de color verde oscuro y larvas de color verde, mientras *H. fulgens*, *H. sorenseni* y *H. corrugate* producen respectivamente huevos de color marrón, beige y oliva, reflejando asimismo las larvas estos colores (Hahn, 1989). La pigmentación de los huevos de *H. tuberculata coccinea* observado es violeta oscura como lo descrito por Peña, (1986). Los colores observados por Peña, (1986) para las larvas trocóforas y veliger, pie violeta y masa visceral, velum y tentáculos cefálicos de color amarilla, difieren de los observado en el presente estudio.

El tamaño de los huevos fertilizados varía también de una especie a otra. El diámetro de los huevos de *H. tuberculata coccinea* observado en este estudio ($205\pm 8\mu\text{m}$) es casi el doble del observado por Peña, (1986) (102.8 ± 0.82) para la misma especie, mientras que es similar al de *H. rubra* ($200\mu\text{m}$) (Harrison and Grant, 1971), *H. sorenseni* ($200\mu\text{m}$) (Leighton, 1972) y *H. tuberculata* ($210\mu\text{m}$) (Koike, 1978). El tamaño de las trocóforas y de las veliger también varía en función de la especie. El largo y la anchura de las larvas de *H. tuberculata coccinea* del presente estudio es diferente de lo observado para otras especies y de lo descrito por Peña, (1986) que observó larvas trocóforas de $201\times 160\mu\text{m}$ y larvas con concha larval completa de $264\times 206\mu\text{m}$. Estas diferencias pueden ser debidas a las diferencias en la alimentación de los reproductores, en las temperaturas de acondicionamiento así como a al hecho que los reproductores son diferentes en tamaño y edad.

Estudios previos sobre el desarrollo larvario de *H. discus hannai* (Seki and Kanno, 1977), *H. sieboldii*, *H. discus* (Ino, 1952) y *H. diversicolor supertexta* (Oba, 1964) mostraron que no existen diferencias en el desarrollo de la fertilización a la trocófora, entre estas especies. En el presente estudio pudimos confirmar esta observación para *H. tuberculata coccinea*. Pero a partir de la larva trocófora, se observaron diferencias con el desarrollo de otras especies.

Durante el desarrollo larvario de *H. tuberculata coccinea*, del estadio de trocófora hasta la torsión se observó, al contrario de otras especies, que aparecen simultáneamente el músculo retractor larvario, la unión a través del tegumento y la masa del pie. También la mancha ocular aparece antes de la torsión, lo que ocurre de forma previa a lo observado en otras especies. Como para *H. discus hannai*, *H. sieboldii*, *H. discus* y *H. diversicolor supertexta*, el desarrollo del opérculo tuvo lugar después de los estadios descritos anteriormente.

Entre los estadios de la torsión a la metamorfosis, se observaron muchas diferencias. Como para *H. discus hannai* y *H. asinina* (Sawatpeera, *et al.*, 2001), la concha larval de *H. tuberculata coccinea* se completó antes de la torsión. Al contrario para *H. sieboldii* Ino, (1952) la torsión se observó antes de la terminación de la concha larval. *H. tuberculata coccinea* al igual que *H. asinina*, desarrolla cilios en la cavidad del manto después de la formación del primer tentáculo epipodal, mientras que, por el contrario, para *H. discus hannai* y para *H. gigantea* se desarrollaron después de la metamorfosis.

Los otolitos se observaron después de la formación del primer tentáculo epipodal, al contrario de lo publicado previamente para *H. tuberculata*. Seki and Kanno, (1977) encontraron una protuberancia del hocico y cilios en la cavidad del manto antes de la formación del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos. Este estudio confirma el mismo orden de aparición, contrario a Sawatpeera, *et al.*, (2001), que describieron su formación después de la aparición del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos para *H. asinina*. Para *H. tuberculata* solo se observaron cilios en la cavidad del manto después de la metamorfosis.

Finalmente, el hecho de que la tasa de desarrollo larvario ha sido descrito únicamente de forma parcial para varias algunas especies de abalón, sumado al hecho que los dichos estudios se realizaron a temperaturas diferentes, no permite comparar todas las características morfológicas descritas entre todas las especies. Pero la comparación entre etapas específicas de desarrollo, permite dar una idea del tiempo requerido para el desarrollo larvario de *H. tuberculata coccinea*, en comparación con otras especies.

Es interesante reseñar que el desarrollo embrionario y larvario de *H. tuberculata coccinea* a la temperatura descrita, en cuanto al tiempo, tiene una mayor similitud con especies de abalones tropicales como *H. asinina* que al de especies de aguas templadas.

El hecho que para Hahn, (1989), la temperatura es un factor importante para diversos estadios de desarrollo como la maduración gonadal, el desove y el desarrollo larvario, podría explicar las diferencias significativas observadas durante el desarrollo de los huevos y de las larvas de *H. tuberculata coccinea* entre este estudio y el de Peña, (1986).

Futuros estudios acerca de la embriología y del desarrollo larvario de *H. tuberculata coccinea* a diferentes temperaturas, podrían ayudar a clarificar la importancia de este factor y sus consecuencias sobre la producción larvaria y el potencial de cultivo de esta especie sub-tropical en comparación con otros abalones de otras regiones.

Tabla XLIII. Tasa de desarrollo larvario de *H. tuberculata coccinea* a $23\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Secuencia	Estadio de desarrollo larvario	(h)
1	Fertilización.	0.00
2	Primer corpúsculo polar.	0.25
3	Segundo corpúsculo polar.	0.39
4	Primera división (2 células).	0.49
5	Segunda división (4 células).	1.26
6	Tercera división (8 células).	1.32
7	Cuarta división (12 células)	1.55
8	Quinta división (16 células).	2.00
9	Mórula.	2.30
10	Blástula.	3.13
11	Gástrula.	4.30
12	Aparición de cilios formando la corona prototrocal.	6.21
13	<i>Stomodeum</i> .	7.22
14	Formación completa de la corona prototrocal y de los cilios.	8.20
15	Larva trocófora preparada para la eclosión.	9.11
16	Formación de la concha larval.	9.35
17	Larva <i>veliger</i> con región apical aplanada y velum totalmente desarrollado con cilios.	11.45
18	Aparición del músculo retractor larval.	15.20
19	Aparición de la unión integumental a la concha larval.	15.20
20	Desarrollo de la masa del pie.	15.20
21	Aparición de la mancha ocular.	17.20
22	Terminación de la concha larval.	18.17
23	Torsión de 90 grados de la masa cefalo-pedal.	18.38
24	Torsión de 180 grados de la masa cefalo-pedal.	21.29
25	Espinas al final del <i>metapodium</i> y formación del opérculo.	22.38
26	Opérculo.	25.00
27	Aparición de cilios en el pie.	26.29
28	Formación de una ranura vertical en el velo.	30.20
29	Aparición del <i>propodium</i> .	36.10
30	Aparición de cilios en el <i>propodium</i> .	39.00
31	Aparición de los tentáculos cefálicos.	40.20
32	Aparición de cilios en la cavidad del manto hasta la parte anterior del velo..	43.00
33	Aparición de la apófisis en el <i>propodium</i> .	47.50
34	Formación de los tentáculos epipodales.	52.32
35	Aparición del otolito.	53.20
36	Aparición de espinas en los tentáculos cefálicos.	54.20
37	Protuberancia del hocico por debajo del <i>velum</i> .	54.40
38	Aparición de dos túbulos en los tentáculos cefálicos.	58.05
39	Aparición del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos.	61.42

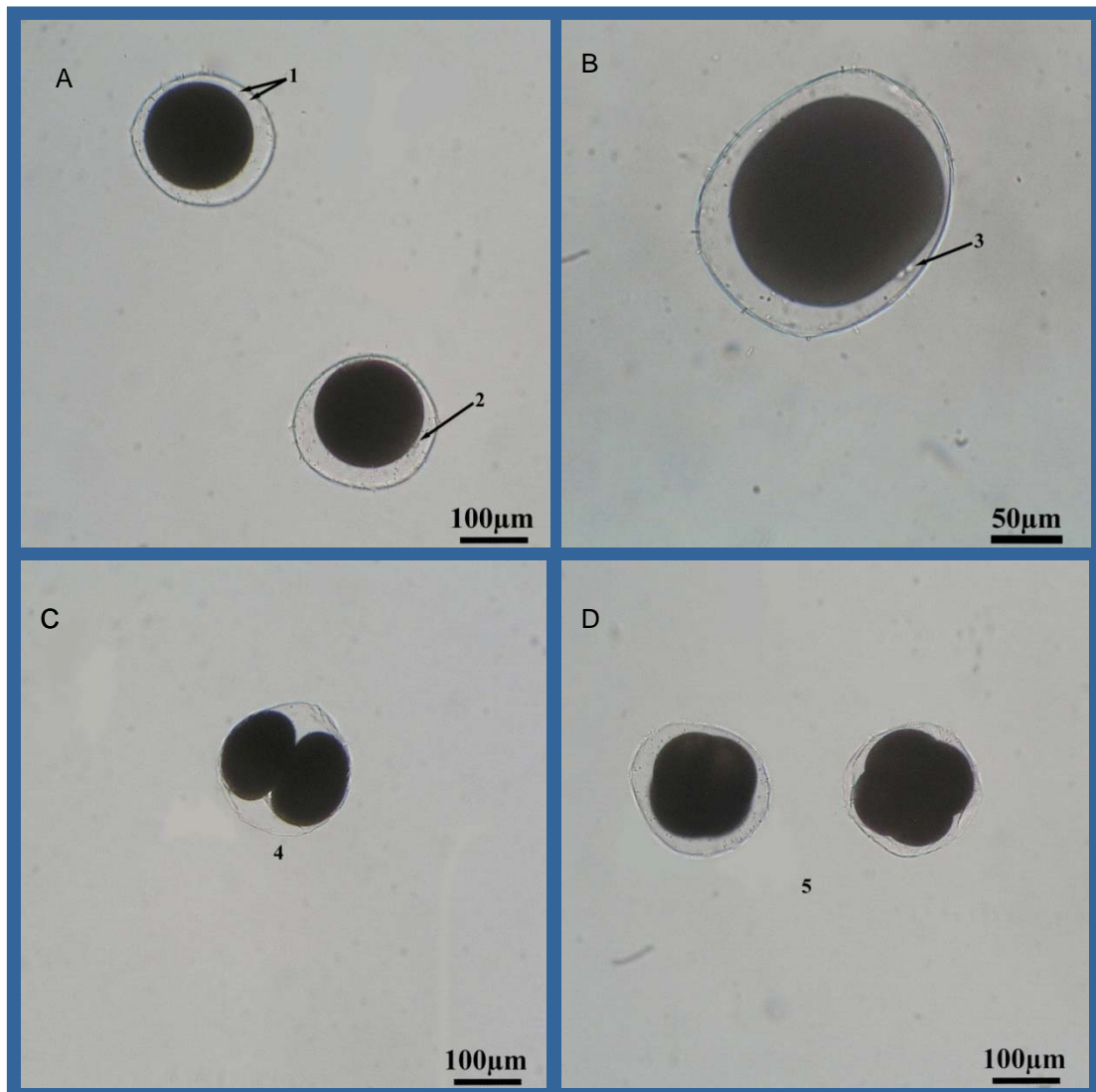


Figura 74. (A) Estadio 1 Espermatozoides. Estadio 2 Aparición primer corpúsculo polar. (B) Estadio 3 Aparición segundo corpúsculo polar. (C) Estadio 4 Primera división (2 células). (D) Estadio 5 Segunda división (4 células)

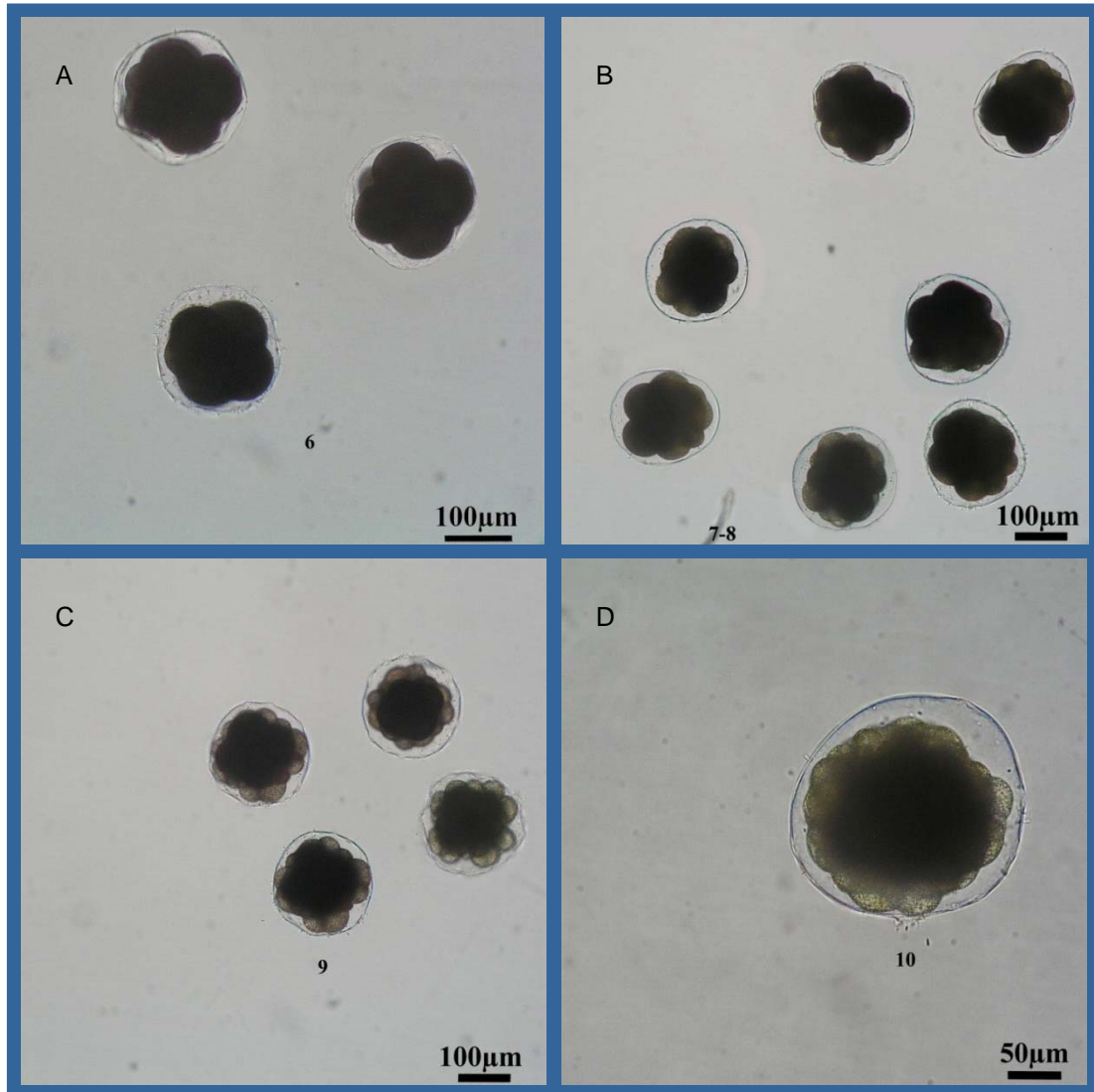


Figura 75. (A) Estadio 6 Tercera división (8 células). (B) Estadios 7&8 Cuarta y quinta división (12-16 células). (C) Estadio 9 Mórula. (D) Estadio 10 Blástula.

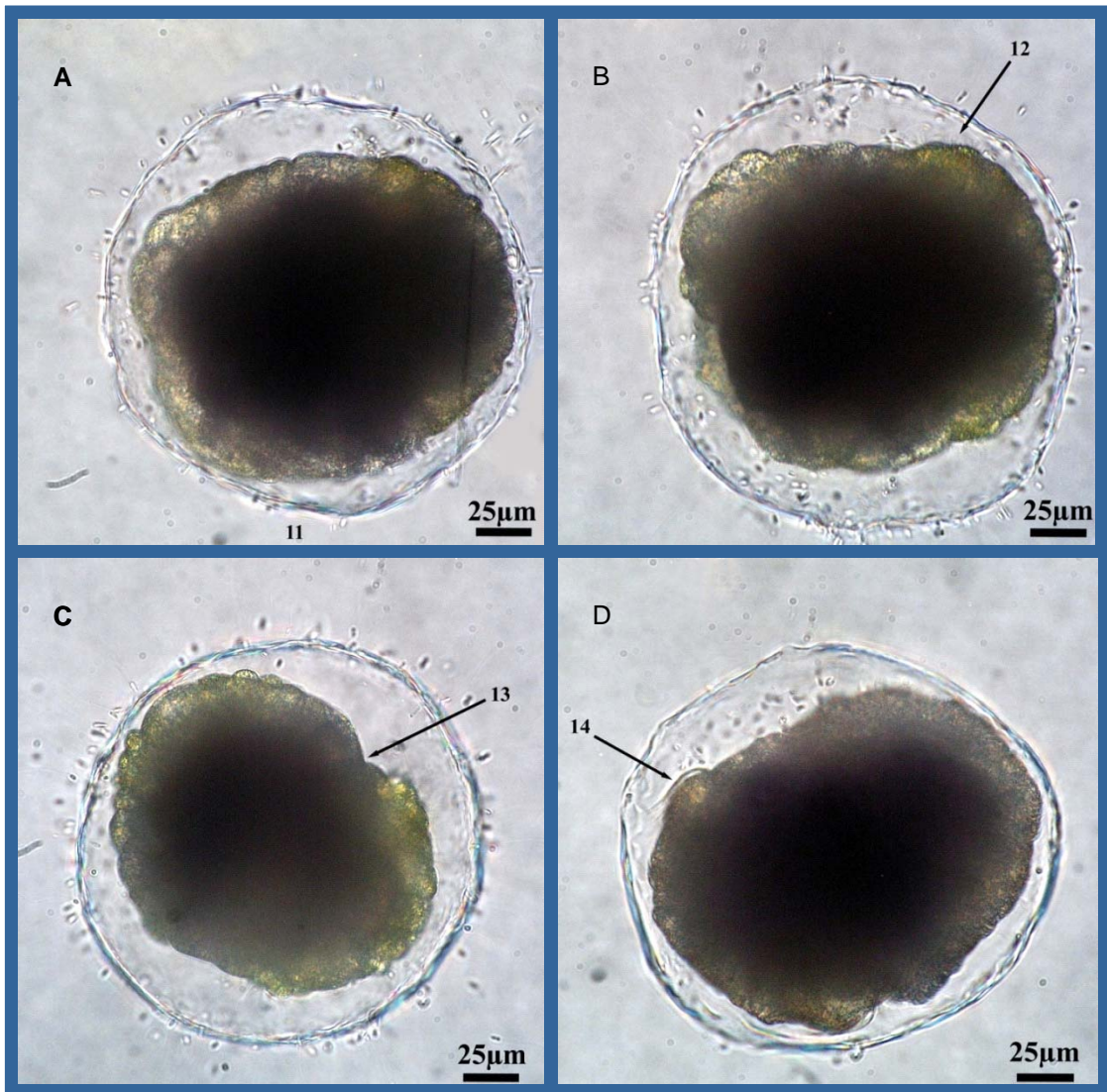


Figura 76. (A) Estadio 11 Gastrula. (B) Estadio 12 Aparición de cilios formando la corona prototrocal (C) Estadio 13 Stomodeum. (D) Estadio 14. Formación completa de la corona prototrocal y de los cilios

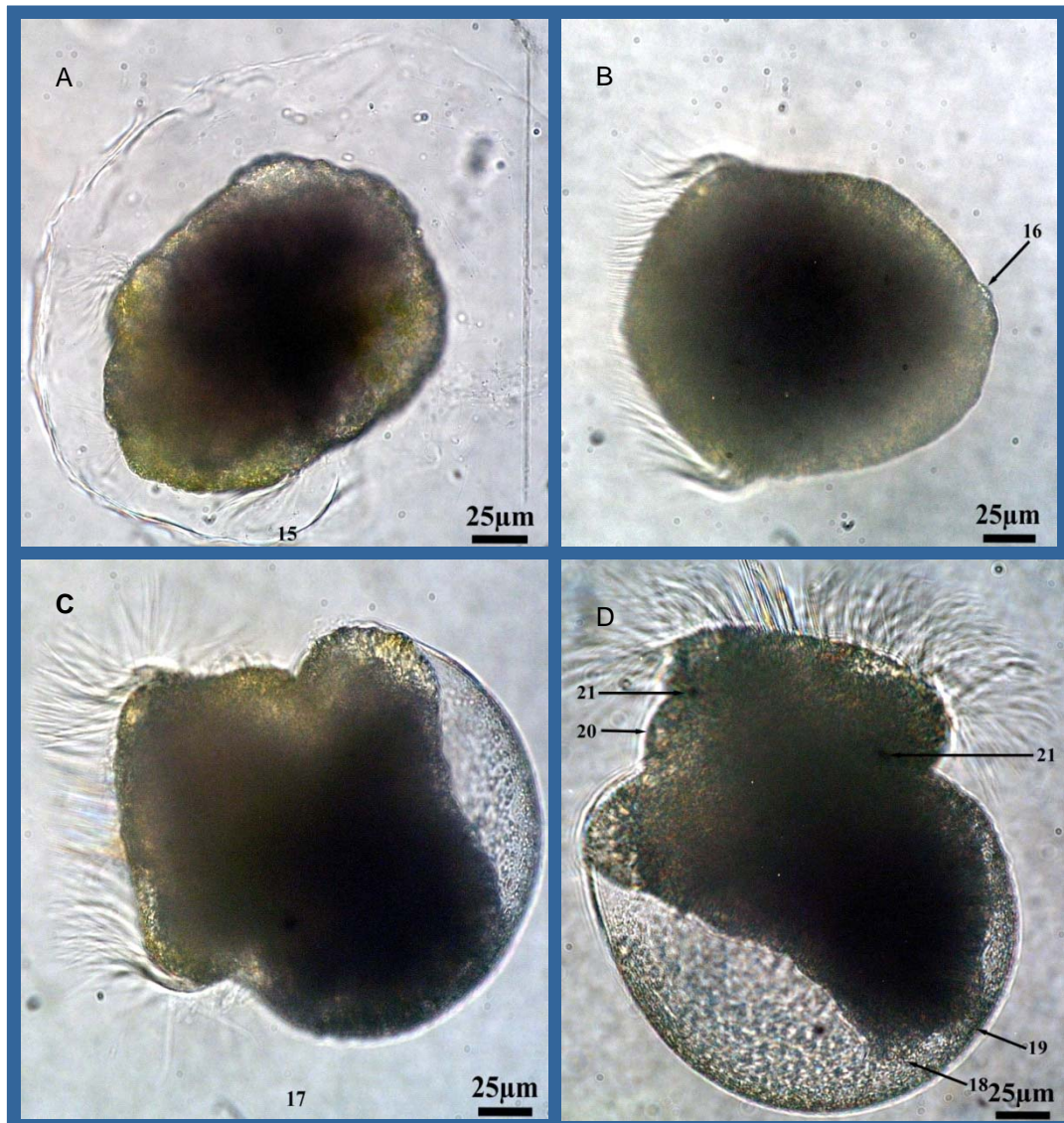


Figura 77. (A) Estadio 15 Larva trocófora preparada para la eclosión. (B) Estadio 16 Formación de la concha larval. (C) Estadio 17 Larva veliger con región apical aplanada y velum totalmente desarrollado con cilios. (D) Estadio 18 Aparición del músculo retractor larval. Estadio 19 Aparición de la unión integumental a la concha larval. Estadio 20 Desarrollo de la masa del pie. Estadio 21 Aparición de la mancha ocular.

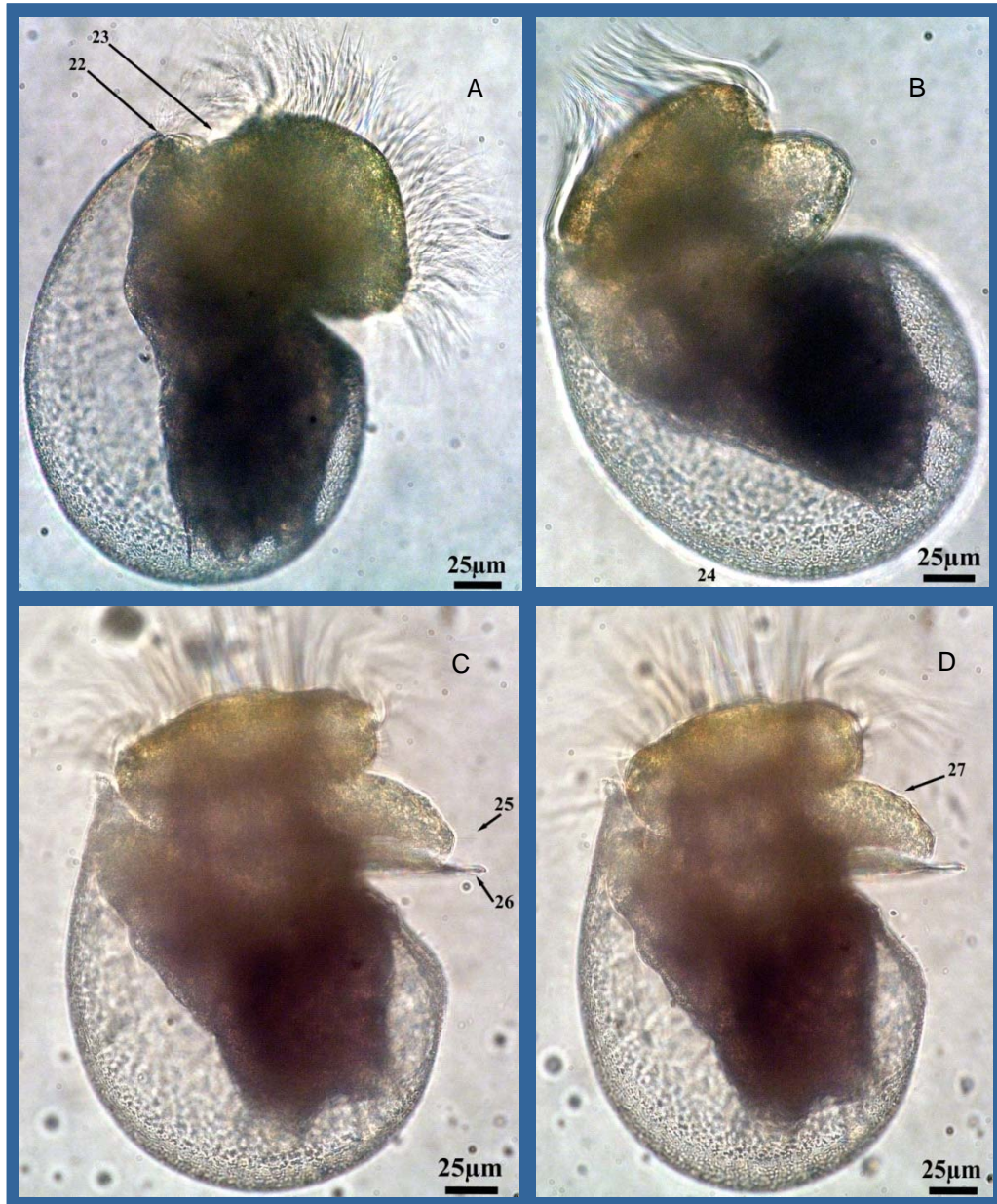


Figura 78. (A) Estadio 22 Terminación de la concha larval. Estadio 23 Torsión de 90 grados de la masa cefalo-pedal. (B) Estadio 24 Torsión de 180 grados de la masa cefalo-pedal. (C) Estadio 25 Espinas al final del metapodium y formación del opérculo. Estadio 26 Opérculo. (D) Estadio 27 Aparición de cilios en el pie.

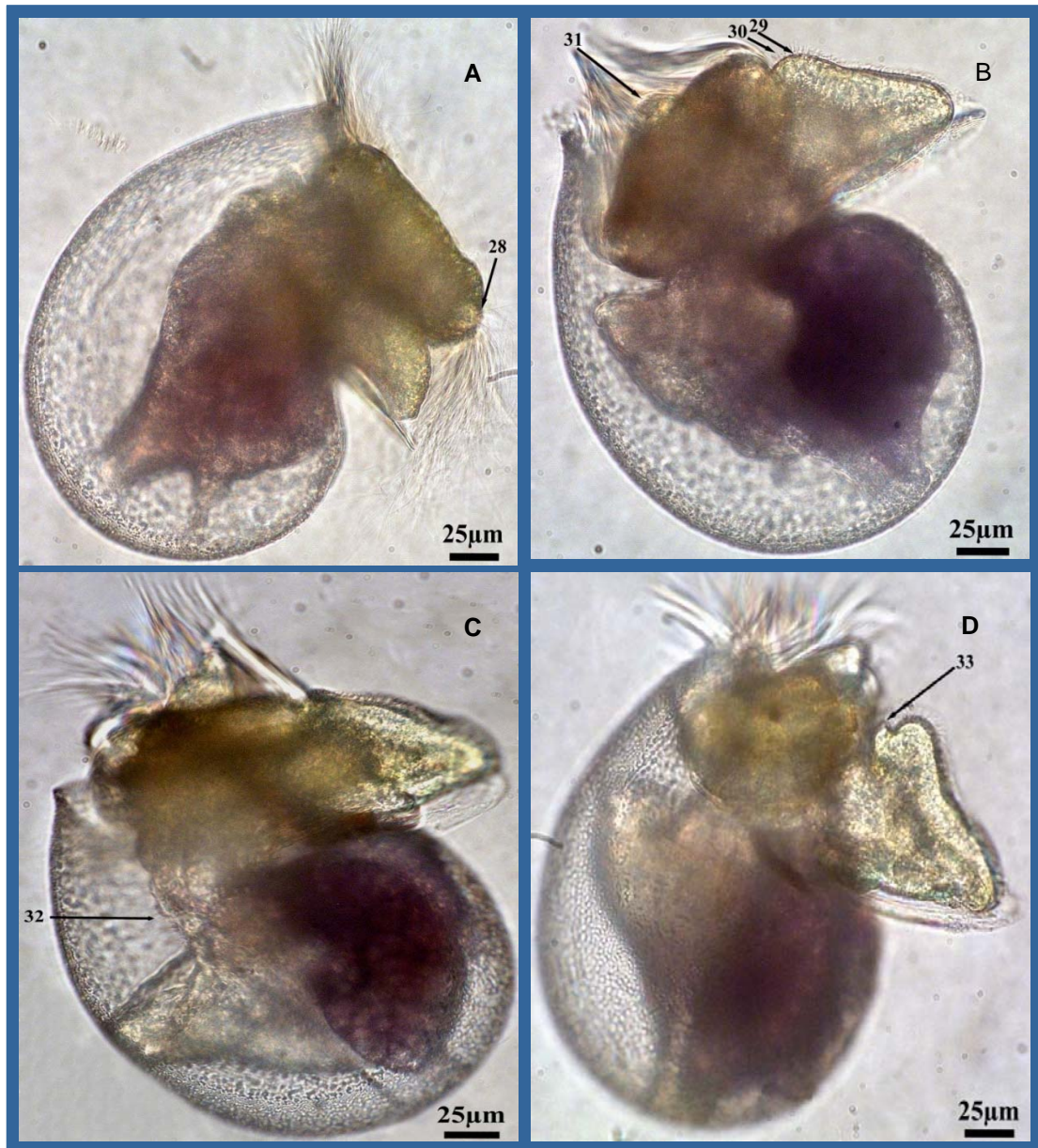


Figura 79. (A) Estadio 28 Formación de una ranura vertical en el velum. (B) Estadio 29 Aparición del propodium. Estadio 30 Aparición de cilios en el propodium. Estadio 31 Aparición de los tentáculos cefálicos. (C) Estadio 32 Aparición de cilios en la cavidad del manto hasta la parte anterior del velum. (D) Estadio 33 Aparición de apófisis en el propodium.

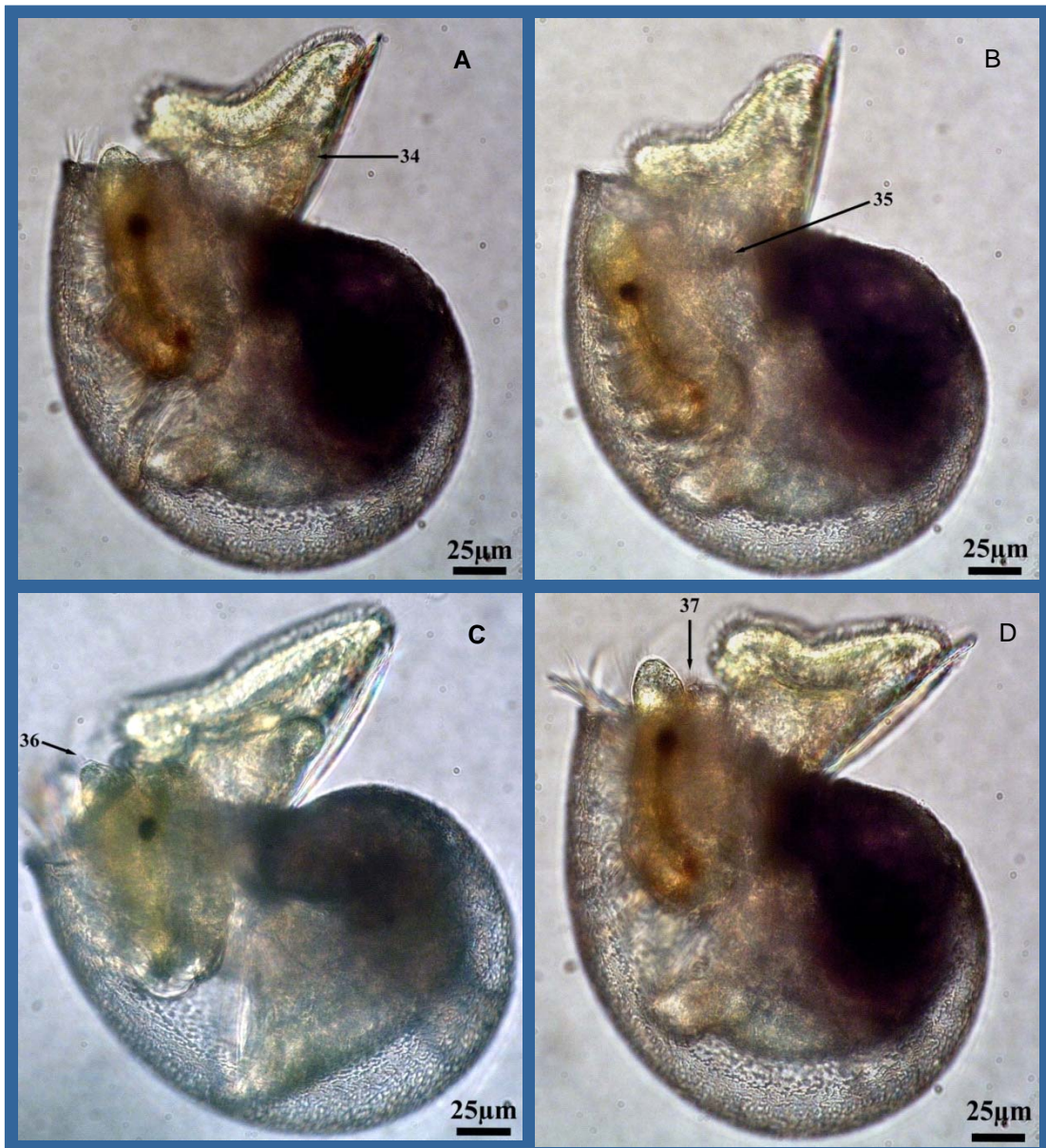


Figura 80. (A) Estadio 34 Formación de los tentáculos epipodales. (B) Estadio 35 Aparición del otolito. (C) Estadio 36 Aparición de espinas en los tentáculos cefálicos. (D) Estadio 37 Protuberancia del hocico por debajo del velum.

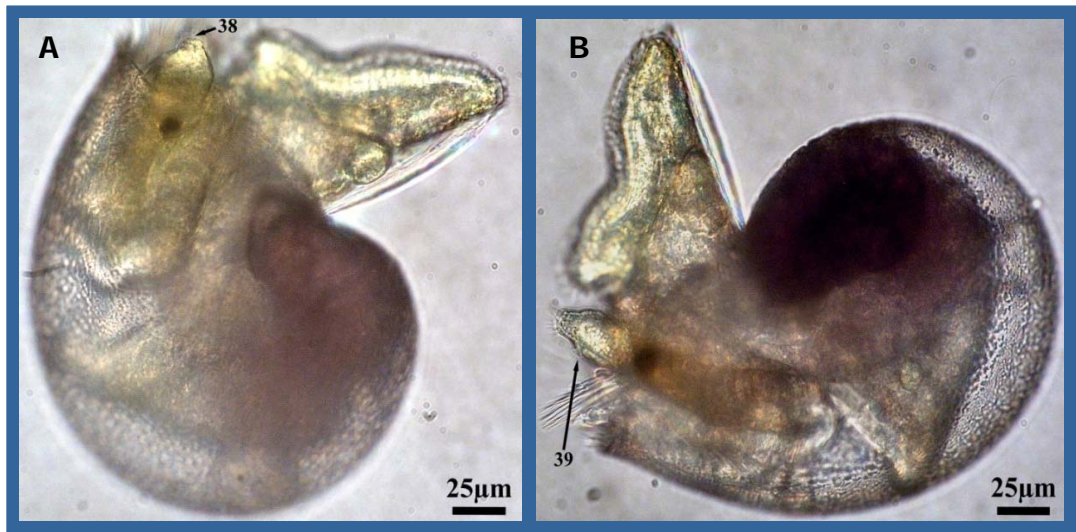


Figura 81. (A) Estadio 38 Aparición de dos túbulos en los tentáculos cefálicos. (B) Estadio 39 Aparición del tercer túbulo en los tentáculos cefálicos

III.1 GALICIA (P₂)

Un aspecto fundamental, que limita la producción industrial de semilla de oreja de mar, lo constituye la alta mortalidad observada en el momento del asentamiento de las larvas, y también el cambio de alimentación que ha de producirse a continuación. En las instalaciones del IGAFSA, se desarrollaron varias líneas de investigación orientadas a mejorar las técnicas de cultivo larvario, el manejo y alimentación postlarvaria, y el preengorde-engorde de semilla.

1.- En lo que respecta al diseño de sistemas para la producción y manejo de fitoplancton bentónico, se ha desarrollado un tipo de bastidor propio (con un área de fijación de 60.000 cm²/ bastidor), con placas intercambiables, que permite el manejo de 30 placas de policarbonato (2000 cm²/ placa), de forma independiente.

Con este tipo de bastidor pudimos producir diferentes especies fitoplanctónicas en condiciones controladas (hemos utilizado placas con *Nitzschia sp.*, *Navicula sp.* y “bloom”), permitiendo reponer placas fitocolonizadas, en lugar de otras ya consumidas; o elegir diferentes dietas, en función de la fase de cultivo de que se trate.

Este sistema, por tanto, nos ha permitido mejorar el manejo de ejemplares en todas las fases en las que éstos consumen microalgas.

2.- En el cultivo larvario, hemos de destacar la aplicación de un sistema de “flujo dirigido (abajo-arriba-abajo)”, para completar las fases larvarias natantes, en circuito abierto.

Con este sistema hemos conseguido fijación masiva a los 5 días, desde el momento de la fertilización, manteniendo una temperatura constante de 18°C. En la fase de asentamiento hemos introducido en los propios tanques larvarios, los bastidores fitocolonizados, anteriormente citados para transferir los individuos desde la sala larvaria hacia los tanques de postlarvas. El cultivo en esta fase, se realizó en los bastidores descritos anteriormente dispuestos en tanques de 500 litros, en circuito abierto con agua de mar filtrada y a temperatura ambiente

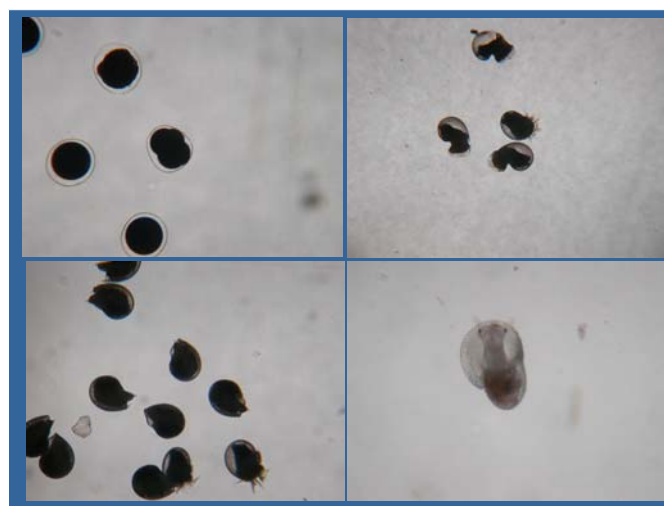


Figura 82. Detalle de las fases del cultivo larvario

La ubicación de los tanques fue bajo invernadero y se taparon con una malla de una capacidad de sombreado del 90%.

3.- Por otro lado, se abordaron experimentos de cambio de alimentación de las postlarvas, para optimizar los resultados de la transición en la alimentación de fitoplancton a macroalgas, o alimento inerte. Probando diferentes fuentes de alimento, en forma de pienso específico, tipo miga, para el “destete” con el objetivo de comparar los resultados de esa dieta con los de una tradicional a partir de macroalga fresca.

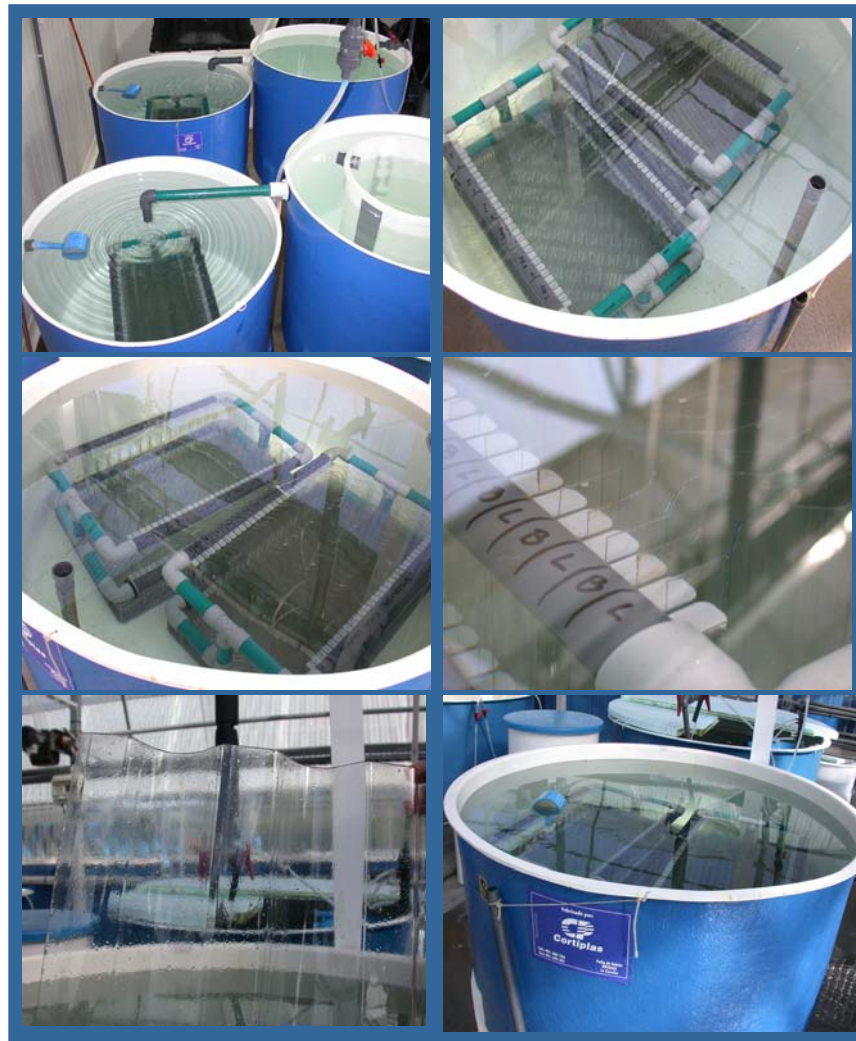


Figura 83. Sistemas utilizados para el cultivo de larvas y postlarvas

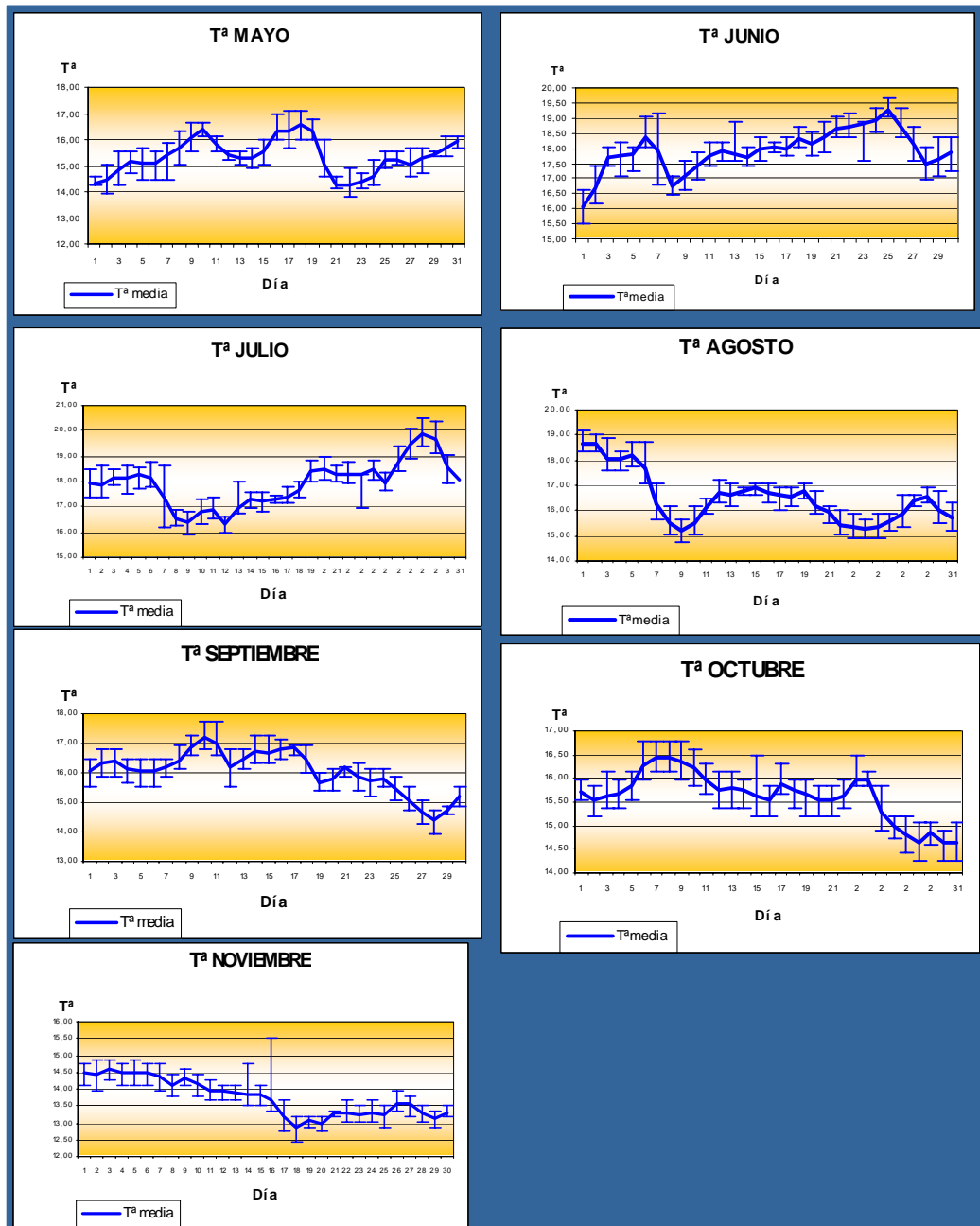


Figura 84. Registros de temperatura en la sala de cultivo larvario y de reproductores, antes de que se equipase con un sistema de calentamiento de agua para mantener una temperatura constante del agua a 18°C

III.1. ASTURIAS (P₃)

En el año **2006**, la inducción a la puesta, sin acondicionamiento previo, se hizo en los meses de julio y septiembre y según el método descrito por Viera *et al* (1h en seco, solución Tris 2M 15 min. y peróxido de hidrógeno 6%).

Tras el desove, la fertilización se realizó mezclando óvulos con espermatozoides en una proporción de 1:1000. Pasado 1 minuto se tamizó por 80µm y se lavaron los huevos con agua filtrada y esterilizada, para eliminar el exceso de espermatozoides y evitar la poliespermia.

Una vez fecundados los huevos se depositaron en una cubeta sin aireación ni renovación de agua y en oscuridad durante 24h. Pasado este tiempo, se retiró el sobrenadante con las larvas móviles y se depositaron sobre un tamiz de 80 µm asentado en un tanque con agua filtrada y esterilizada. En este tanque las larvas permanecieron 2 días sin alimento, con aireación débil y renovación diaria del 50%. Al tercer día se produjo la mortalidad total de las larvas, sin poder llevar a cabo la fijación en los colectores.

En el mes de julio del **2007** y a partir de reproductores capturados del medio natural, se llevó a cabo una puesta natural la misma noche de su recolección. Para ello, una vez recogidos los ejemplares, 10 machos y 10 hembras, se mantuvieron en seco durante tres horas y se depositaron en un tanque de 400l de volumen, con circuito abierto de agua de mar filtrada a 10µm y esterilizada con luz ultravioleta, con una renovación de 2l/ min. Los óvulos fecundados fueron retenidos en un tamiz de 80µm depositándolos en una cubeta sin aireación ni renovación de agua y en oscuridad durante 24h. Pasado este tiempo, se retiró el sobrenadante de la cubeta, que contenía las larvas móviles, eliminando el poso con huevos no fecundados o anómalos.

Se hizo el recuento y se estimaron unas 360.000 larvas, que se depositaron sobre un tamiz de 80µm, a una densidad de 5 larvas/ml. Se introdujeron en un tanque con agua filtrada y esterilizada en circuito en donde permanecieron 3 días sin alimento. Pasados estos días, se observó una mortalidad del 80%, disponiendo por lo tanto de 72.000 larvas para realizar la fijación.

Para **la fijación**, se utilizaron colectores colonizados previamente con diatomeas bentónicas de las especies *Cylindrotheca closterium*, *Proschkinia sp.*, *Amphora sp.* y *Nitzschia sp.*, cepas procedentes de la Colección de Cultivos de Microalgas Marinas (CCMM) del ICMAN (Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía), CSIC. y colectores tapizados con especies de diatomeas procedentes de la misma ría. Todos los colectores fueron introducidos en un tanque de 1000l.

A los 17 días de la puesta se detectan las primeras semillas fijadas a los colectores. Periódicamente se inoculaba el tanque con diatomeas bentónicas para mantener el alimento de las semillas.

A los 30 días se realiza un primer muestreo, obteniendo una talla media de 2,1 mm., a los 45 días la media de longitud de los ejemplares era de 2,3 mm y a los 60 días de 3,44mm. A los cinco meses de la puesta se produjo una mortalidad total del cultivo. La talla máxima alcanzada fue de 7,5 mm. Los valores de los parámetros fisicoquímicos del agua no explican dicha mortalidad, probablemente proliferación bacteriana y deficiencias nutritivas pudieran ser la causa.

El 19 de agosto del **2008**, se realizó una inducción a la puesta, sin acondicionamiento previo y según el método descrito por Viera *et al* (1h en seco, solución tris 2M, 15 min. y peróxido de hidrógeno 6%, 3 horas). Se utilizaron 8 hembras y 5

machos, con una talla entre 45mm y 65mm. Colocamos cada ejemplar en una bandeja con un litro de agua de mar filtrada y añadimos 6,6 ml de Tris (2M) por litro de agua de mar, esperamos 15 minutos y 4 ml de H₂O₂ al 6% por litro de agua de mar y esperamos 3 horas.

El desove solo se produjo en 2 hembras y 1 macho así que se recuperaron los reproductores y se estabularon en un tanque de 80 litros con agua filtrada y esterilizada. En la salida del tanque se colocaron un tamiz de 500 µm y otro de 80 µm. Se produce la puesta nocturna y se obtienen unas 155.000 larvas.

Repartimos las larvas en 6 tamices de 80 µm (38.750 larvas/tamiz a 1.450 larvas/litro) y se introducen en un tanque de 1.000 litros, en circuito abierto con agua de mar filtrada. El tanque se oscurece con unas planchas de poliespán. La temperatura se mantiene a 18,0°C ±1 y la salinidad entre 32‰ y 33,5‰.

Para la fijación, se utilizaron colectores inoculados con 20 días de antelación con diatomeas bentónicas de las especies *Cylindrotheca closterium*, *Proschkinia sp.*, *Amphora sp.* y *Nitzschia sp.*, cepas procedentes de la Colección de Cultivos de Microalgas Marinas (CCMM) del ICMAN (Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía), CSIC. y con especies de diatomeas procedentes de la misma ría. Todos los colectores fueron introducidos en un tanque de 1000l.

Previo a la introducción de las larvas se llevó a cabo una limpieza suave del tanque con agua de mar y se introdujeron 10 juveniles para el ramoneo de las placas.

En el momento de la siembra de las larvas, a los 3 días cuando aparece el tercer tentáculo cefálico, se cierra el circuito del agua y se mantiene a temperatura de 17°C±1 y aireación suave, durante 5 días. A partir de ahí se abre el circuito con una renovación de 1l/minuto.

Cada 10 días se cierra el circuito 24 horas, se inocula con *Nitzschia sp* y *Cylindrotheca closterium* y se abona con Algal y silicatos.

A los 60 días se introducen macroalgas, como: *Laminaria ochroleuca*, *Fucus serratus*, *Fucus spiralis*, *Fucus vesiculosus*, *Ascophyllum nodosum*, *Codium tomentosum* y *Ulva sp.* y se sigue abonando el tanque e inoculando con diatomeas bentónicas. La temperatura del tanque se mantiene con calentadores a 15°C±1 y la salinidad entre 30‰ y 34‰.

A los 66 días, los colectores están cubiertos de semilla. El rango de talla se sitúa entre 1,6mm y 2,5mm, la talla media de 2,0mm.

A los 4 meses, el 18 de diciembre, se hace un recuento total del tanque, estimándose unas 3.470 semillas fijadas en los colectores, paredes y fondo del tanque. Se hace un control de tallas y se obtiene un rango de talla de 3,2mm-6,4mm y una talla media de 4,7mm±0,94. Del total, 5 ejemplares, que no fueron considerados para el muestreo de tallas, destacan por su tamaño: 14mm, 0,29g; 15mm, 0,36g; 18mm, 0,59g; 18mm, 0,69g y 23mm, 1,16g.

A los 6 meses, el 13 de febrero de 2009 se hace un segundo control de talla obteniéndose los siguientes resultados: (3,5mm-7,3mm) y 5,22mm de media

Todos los ejemplares obtenidos fueron sembrados durante la bajamar, en la zona del puerto de Tapia de Casariego, en donde se habían recolectado los reproductores.

TAREA III.2. Evaluación de los sustratos óptimos para la producción larvaria (P₁, P₂)

III.2.1 Producción de diatomeas (P₁, P₂)

III.2. 1. CANARIAS (P₁)

Las labores de producción de diatomea, necesarias como primer alimento para el cultivo de postlarvas, se desarrollan en dos sitios; el cepario y la producción a pequeña escala en una cámara de cultivo isotérmica, y la producción a gran escala a temperatura ambiente en una sala cerca de las instalaciones de cultivo.

Cámara de cultivo isotérmica

En la cámara de cultivo isotérmica, de aproximadamente 6m² se guardan y cultivan las diferentes cepas en tubos de ensayo de 40ml, y en balones de 6L. (Fig 85) La temperatura se mantiene constante entre 18 y 20°C. Los cultivos se encuentran bajo iluminación continua proveniente de tubos fluorescentes. El material como el medio de cultivo (F/2) a esta escala se esteriliza semanalmente durante 20 minutos a 121°C en un autoclave de 165L.

La aireación tiene lugar a través de un compresor de 14 salidas, cada una conectada a una tubería flexible 6mm de diámetro a su vez conectada al aireador de los balones y regulado por una llave plástica de 4mm.

Se utiliza un mechero de gas para mantener condiciones de esterilización para inocular.

En este momento hay 6 cepas de diatomeas en la cámara de cultivo. *Navicula incerta*, *Amphora ovalis*, *Amphora coffeaformis*, *Navicula* sp, *Nitzschia* sp, *Amphiprora* sp. Cada una de las cepas está guardada por triplicado en tubos que se inoculan cada 15 días, los balones se inoculan semanalmente con un inóculo del 10%.



Figuras 85. Cámara de cultivo isotérmica, cepario y cultivo de diatomeas en balones

Producción a gran escala

La producción de diatomea a gran escala se realiza en bolsas de 40 l a temperatura ambiente y bajo iluminación continua proveniente de tubos fluorescentes. El agua utilizada para el cultivo se filtra a $1\mu\text{m}$ y se esteriliza con luz Ultra Violeta antes de añadir el medio de cultivo (F/2). Los cultivos se realizan en bolsas verticales y horizontales (Fig.86) en las cuales la aireación tiene lugar a través de unas tuberías de polietileno de 6mm de diámetro. La cantidad de aire se puede regular a través de una llave plástica de 4mm. Todas las cepas guardadas en el cepario se cultivan a gran escala y se inoculan semanalmente con un inóculo del 10%.

Se induce con regularidad la producción de blooms fitoplanctónicos en las bolsas plásticas para multiplicar las posibilidades de aislamiento de especies de diatomeas bentónicas del medio natural.



Figura 86. Bolsas, verticales y horizontales, de cultivo de diatomeas

Producción a gran escala en bandejas en estanterías

Para las necesidades del proyecto y para mejorar la producción de diatomeas fue necesario proceder a la reforma del antiguo cuarto de producción de fitoplancton y transferir el cultivo a gran escala a un sistema de producción en horizontal. La instalación de este nuevo sistema consta de una estantería de dos alturas para adecuarse al espacio disponible y de 24 bandejas de plástico, de 40 litros de volumen. (Fig.87)

A continuación se describe el sistema de producción a gran escala diseñado y construido por el Grupo de Investigación en Acuicultura en el ICCM.

Con este sistema, se pretende conseguir tener un sistema de producción que permite mejorar la capacidad de fijación de las diatomeas a los sustratos de cultivo de abalones. Este sistema forma parte de un conjunto de instalaciones más amplias destinadas al cultivo de oreja de mar.

La producción de diatomea a gran escala se realiza en bolsas de 40 l en bandejas distribuidas en una estantería. El cultivo se realiza a temperatura ambiente y bajo iluminación continua proveniente de tubos fluorescentes (6000 lux) (Fig 87). Para la producción de diatomeas, es importante la calidad del agua. El agua utilizada para el cultivo pasa primero por una filtración mecánica a través de filtros de cartucho hasta $1\mu\text{m}$ y se esteriliza con luz Ultra Violeta antes de añadir el medio de cultivo (F/2) (Fig 88).

Todas la cepas guardadas en el cepario se cultivan a gran escala y se inoculan semanalmente con un inóculo del 10% (Fig 89).

Se realiza un control diario, de la temperatura del agua. Se realizan controles semanales de salinidad y pH.



Figura 87. Vista general de la instalación e iluminación de la instalación

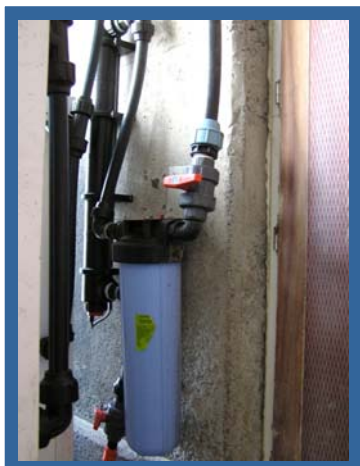


Figura 88 y 89: Bolsas horizontales de cultivo de diatomeas bentónicas y sistema de esterilización del agua

III.2.2 Evaluación de los sustratos óptimos para la producción larvaria

III.2.2. CANARIAS (P₁)

INTRODUCCIÓN

La sobrepesca mundial de bancos naturales de abalones y la alta demanda del producto, ha propiciado el desarrollo industrial del cultivo de este gasterópodo. La etapa de cultivo larvario se realiza comúnmente con un 90% o más de supervivencia. Por el contrario, la de fijación y metamorfosis, se destaca como la fase más crítica del cultivo, con una mortalidad que asciende usualmente a un 90-99% durante este período. Los estudios existentes sobre técnicas de inducción a la fijación larval (Morse, *et al.*, 1979b; Seki y Kan-no, 1981; Morse y Morse 1984; Searcy-Bernal, *et al.*, 1992; Roberts, 2001) indican que las larvas preparadas para la metamorfosis, tienen necesidad de encontrar y entrar en contacto con estímulos de fijación.

De forma general, se han utilizado diatomeas bentónicas o biofilms naturales como sustratos, tanto para inducir al asentamiento como para alimentar a las postlarvas (Seki, 1980; Seki y Kan-no, 1981; Hahn, 1989; Takami et al., 1997; Daume et al., 2000). Sin embargo los estímulos necesarios para la fijación y el crecimiento larvario proporcionado por dichos sustratos resulta ineficiente (Kawamura y Takami, 1995; Buchal, *et al.*, 1998; Bernal, *et al.*, 2000; Daume, *et al.*, 2000). Así mismo, se ha observado que tanto el mucus de juveniles o adultos, como algunas sustancias encontradas en algas incrustantes coralinas, tales como el ácido gamma-aminobutírico (GABA), inducen de manera efectiva el asentamiento y la metamorfosis larval (Morse, *et al.*, 1979a; Seki y Kan-no, 1981; Slattery, 1992; Searcy Bernal *et al.*, 1992; Seki y Taniguchi, 1996; Seki 1997; Takami *et al.*, 1997; Bryan y Qian, 1998; Searcy-Bernal y Anguiano-Beltran, 1998; Daume et al., 1999). En Japón, los criaderos cultivan *U. lens* para mejorar la fijación y alimentar a los juveniles de *H. discus hannai* (Takahashi y Koganezawa, 1988). Considerando la importancia del abalón en el desarrollo de la acuicultura actual y futura, es interesante desarrollar técnicas de cultivo de *H. tuberculata*. Por eso, con el fin de mejorar la tasa de asentamiento y metamorfosis de las larvas, un paso clave para el desarrollo y la estandarización de la tecnología de producción a gran escala, se realizó el presente estudio de comparación la eficiencia de varios sustratos, en relación a los porcentajes de fijación de las larvas en el momento crítico de la metamorfosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los reproductores de *H. tuberculata coccinea* fueron inducidos a la puesta utilizando peróxido de hidrógeno (Morse, *et al.*, 1977). Todas las larvas empleadas en el experimento provenían de un mismo lote y se consideraron competentes para la fijación a partir de la observación del desarrollo del tercer túbulo cefálico (Hahn, 1989). Durante el experimento se comparó la eficacia de inducción a la fijación larvaria de 4 tipos de sustratos diferentes y de un control negativo de placas sin colonizar, mediante 3 réplicas de 4 placas de fijación por tratamiento. Las placas de fijación, de 25cm² de metacrílateo fueron

colocadas en posición vertical en tanques de 10L de agua filtrada a $1\ \mu\text{m}$ (Fig 90). Las placas fueron colonizadas por algas coralinas o *U. lens* o *N. incerta*, o *U. lens* + *N. incerta* (Fig 92). Las esporas de *U. lens* se obtuvieron según el método de Takahashi y Koganezawa (1988). En cada tanque de 10L, se sembraron 2000 larvas competentes para la fijación de 72h de vida, a una temperatura de agua de $19\pm 0.5\ ^\circ\text{C}$. Durante todo el experimento, los tanques se mantuvieron a temperatura ambiente bajo iluminación continua. Los tanques se mantuvieron sin flujo durante las primeras 24 horas y después se introdujo un flujo de 80 ml/min en cada tanque. Las larvas se contabilizaron bajo una lupa binocular a las 48 horas, después de ser introducidas en los tanques experimentales. Se consideraron fijadas aquellas larvas que habían perdido el velo, y que presentaron crecimiento de la concha, señal de metamorfosis. Los datos de número de larvas se transformaron para obtener datos normalizados para poder realizar una ANOVA de una vía y aplicar el test de Tukey de comparación múltiple de medias para analizar los datos. Se consideraron datos estadísticamente diferentes cuando $P < 0.05$.



Figura 90. Vista general del dispositivo experimental

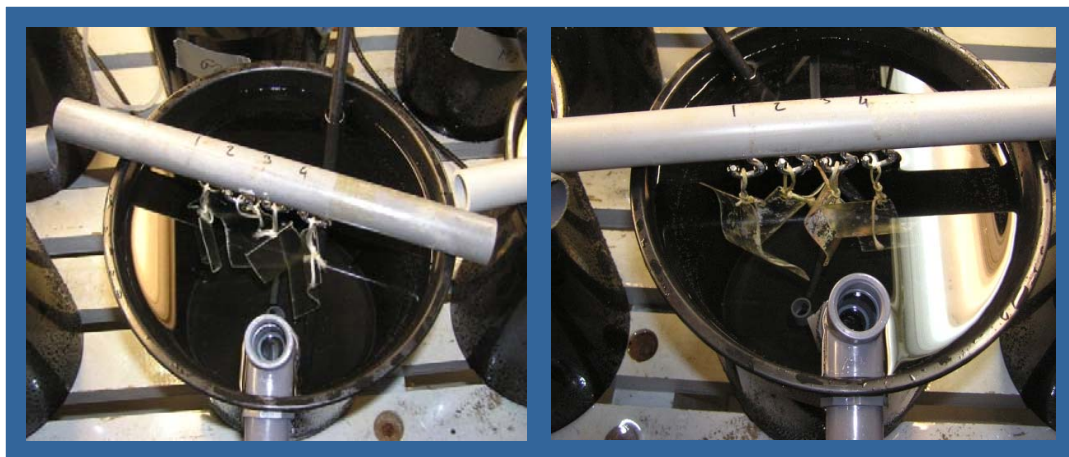


Figura 91. Tratamiento control (izda) y algas coralinas (dcha)

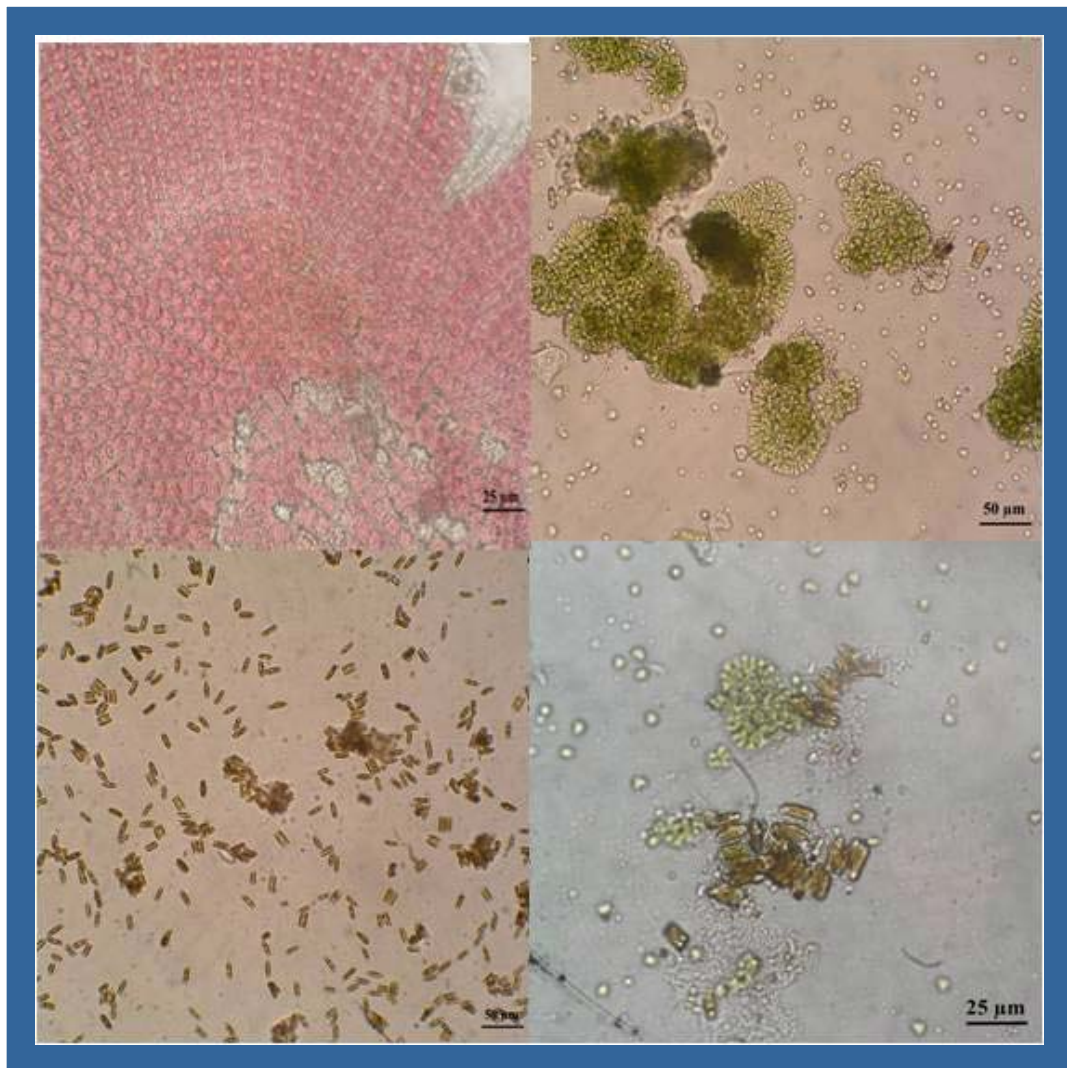


Figura 92. Tratamientos experimentales: *Navicula incerta* (a), *Ulvella lens* (b), *Alga coralina* (c), *Navicula incerta* + *Ulvella lens* (d)

RESULTADOS

El porcentaje medio de fijación a las 48h para algas coralinas fue de un 34%, significativamente mayor ($P < 0.001$) que el obtenido con *N. incerta* con un valor de 0.9% (Tabla XLIV, Fig 93). No hubo diferencia significativa entre los porcentajes de fijación obtenidos para la diatomea *N. incerta* y el control negativo ($P > 0.05$). Todos los tratamientos, excepto el de la *N. incerta*, fueron significativamente diferentes del control ($P < 0.001$). Todas las comparaciones entre los cuatro tratamientos presentaron una alta diferencia significativa ($P < 0.001$) así como en el caso de la comparación entre *U. lens* y las algas coralinas ($P < 0.05$). La eficacia de *U. lens* como inductor de fijación fue significativamente diferente ($P < 0.001$) según si había sido inoculada o no con *N. incerta*.

Tabla XLIV. Porcentaje de fijación de post-larvas de *Haliotis tuberculata coccinea*, en respuesta a cuatros sustratos de inducción a la fijación, a las 48h después de su introducción a tanques de fijación (media±S.D.)

Tratamiento	% Fijación a las 48 h
<i>Ulvella lens</i>	22.13 ± 4.1
Control	0.42 ± 0.16
Algas coralinas	34.35 ±9.47
<i>Ulvella</i> + <i>Navicula incerta</i>	9.37 ±1.48
<i>Navivula incerta</i>	0.9 ±0.13

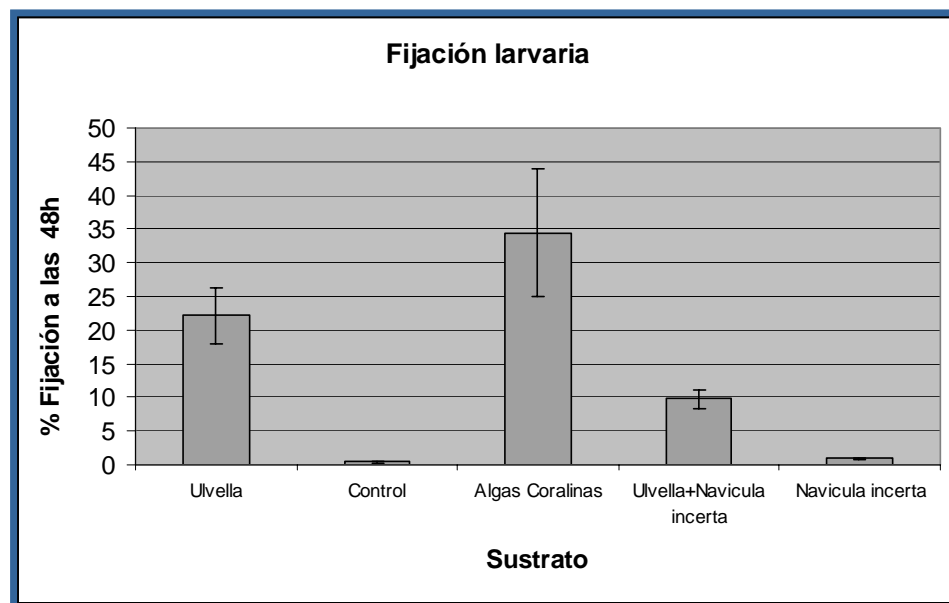


Figura 93. Porcentaje de fijación de las post-larvas de *haliotis tuberculata coccínea* a las 48. Barras verticales indican la desviación estándar (n=3)

DISCUSIÓN

Sabiendo que los factores que influyen en la fijación larvaria pueden tener impacto a largo plazo sobre la supervivencia de los juveniles y su desarrollo (Slattery, 1992) y frente a la inexistencia de estudios sobre la fijación larvaria del abalon Europeo *H. tuberculata*, se realizó el presente estudio, comparando la capacidad de inducción a la fijación larvaria de varios sustratos utilizados para otras especies de abalones, con el fin de determinar su idoneidad para el cultivo de *H. tuberculata coccinea*. En este estudio larvas de *H. tuberculata coccinea* no respondieron al biofilm de *Navicula incerta*, lo que se corrobora con lo encontrado por Daume y colaboradores, (2000), que utilizando otras especies de *Navicula* no llegaron a inducir a larvas *H. rubra* de forma satisfactoria. Por el contrario, Kawamura y Kikuchi, (1992) lograron con éxito la fijación de *H. discus hannai* envejeciendo los sustratos con *N. ramosissima*. Eso indica que, posiblemente, la eficacia de inducción a la fijación de biofilm de diatomeas es específica de las especies o bien que los productos extracelulares de las diatomeas o las bacterias asociadas pueden jugar un papel importante en la inducción a la fijación larvaria. Se demostró que larvas de *H. tuberculata coccinea*, se fijaron con una tasa satisfactoria sobre algas coralinas y *Ulvella lens*; con unos valores mayores que los obtenidos con un biofilm de diatomea bentónica, sistema tradicional mundialmente utilizado en varios criaderos. El resultado obtenido con las algas coralinas, a pesar de ser consideradas como los mejores inductores de fijación larvaria, con unos valores hasta de un 80% (Roberts, 2001), dio lugar a una tasa de fijación mas baja, con resultados similares a lo observado para *Haliotis laevigata* y *H. rubra* por Daume *et al.* (1999, 2000). Estas diferencias se podrían explicar por la variedad de especies y formas de crecimiento de las algas coralinas utilizadas los experimentos. La tasa de fijación de un 22% alcanzada con *U. lens* concuerda con la observada por Daume *et al.* (2000) para *H. rubra*, eso demuestra su eficiencia de inducción a la fijación de *H. tuberculata coccinea*. Como Daume *et al.* (2000) hemos observado tasas de fijación en un rango similar (10%) para *U. lens* colonizada por un inóculo de diatomea, lo que confirma la pérdida de inducción a la fijación de *Ulvella lens* una vez colonizada.

CONCLUSIÓN

Los resultados del presente estudio permiten evaluar por primera vez los tipos de señales más adecuados para inducir la fijación larvaria de *H. tuberculata coccinea*, y de compararlos con lo observado para otras especies. De los sustratos evaluados, los mejores inductores de fijación postlarvaria han sido Algas coralinas y *U. lens*. Serían necesarios futuros experimentos con el fin de mejorar las tasas de fijación obtenidas con el biofilm de diatomeas así como evaluar la supervivencia de las postlarvas asentadas sobre los sustratos de Algas coralinas y *U. lens*. No obstante, el presente estudio ofrece un método conveniente para inducir niveles razonables de fijación larvaria que se podrían aplicar a condiciones de cultivo a gran escala.

III.2.2. GALICIA (P₂)

La producción de blooms fitoplanctónicos inducidos se realizó en una primera fase en bolsas plásticas donde se promocionó su fijación. Sobre estas poblaciones naturales se realizó una selección previa en función de las principales características que presentaron, atendiendo a su capacidad de adherencia, densidad de cultivo y tasa de fitocolonización.

Una segunda fase incluyó la transferencia de varias de estas especies a tanques, para comprobar la respuesta de cultivos puros sobre las superficies de tanques y sobre otras superficies portátiles tipo placa.

A continuación se realizaron comparaciones preliminares entre estas placas y las superficies expuestas en los tanques.

Con estas especies, adaptadas a las condiciones ambientales propias de las aguas gallegas, se ha pretendido abordar producciones masivas en el cultivo de biofilms, utilizados en la fase de fijación y alimentación post-metamórfica, de los ejemplares de oreja de mar producidos en criadero.

Posteriormente el equipo de mantenimiento del CIMA elaboró diferentes prototipos de bastidores a medida que probamos para poder escoger finalmente el diseño que resultase más funcional.

A partir de los resultados obtenidos se decidió contar en las instalaciones de criadero, con soportes tipo bastidor (para placas onduladas de policarbonato), donde incrementar la superficie total colonizable. Estos bastidores se ubicaron en el interior de tanques a la intemperie, y también en tanques alojados en un invernadero.

Se evaluaron, los efectos de las diferentes condiciones ambientales de iluminación y temperatura sobre las placas, en ambos emplazamientos.

Como consecuencia de estos ensayos se ha completado el aislamiento de dos morfotipos pertenecientes a sendas especies de diatomeas bentónicas (*Nitzschia sp.*, *Navicula sp.*) procedentes del medio natural. Con estas operaciones se ha logrado disponer de microalgas con comportamiento bentónico y capacidad fitocolonizadora, tanto sobre placas como en otros tipos de soportes, aplicables en la producción en masa.

El hecho de poder aplicar este sistema de producción de microalgas, en la misma área prevista para el cultivo de semilla, permitió adecuar las densidades de cultivo a la biomasa fitoplanctónica disponible, y de ese modo tener una expectativa de producción lo más ajustada posible a las condiciones de dicho emplazamiento.

Por otro lado se ha diseñado, como se apuntaba anteriormente, un sistema de placas de policarbonato independientes para poder variar la disponibilidad de diferentes especies de diatomeas bentónicas, o utilizar diferentes densidades de producción por unidad de superficie, en función de la fase de desarrollo de postlarvas en la que nos encontrásemos.

III.3. Producción de postlarvas

III.3 GALICIA (P₂)

La actividad de engorde de semilla adquirida a partir de criaderos presentes en otros países europeos quedó bloqueada debido a los problemas patológicos surgidos con semilla de oreja importada de Irlanda por parte de nuestro equipo en un proyecto anterior.

La identificación de una especie de Haplosporidio desconocida hasta entonces y causante de una elevada mortalidad provocó la paralización de negociaciones para la compra de semilla a criaderos extranjeros y su introducción en aguas gallegas.

Por esta razón se tomó una decisión conjunta, en el año 2006, de modo que los tres grupos de investigación de cada comunidad autónoma acordamos realizar los ensayos de alimentación de semilla de oreja de mar a partir únicamente de los ejemplares producidos en los respectivos criaderos. De este modo, la semilla producida en el criadero del IGAFa se empleó para intentar comparar el efecto de una dieta natural a base de macroalgas, con otra artificial en forma de pienso específico.

Para ello se cultivó semilla de *Haliotis tuberculata*, en una sala isoterma, en tanques plásticos de 28 litros, con agua de mar filtrada a 25 μ m, en circuito abierto. La temperatura del agua de cultivo se mantuvo controlada a $17 \pm 1,6^\circ\text{C}$ y sometida a registro continuo mediante una sonda “Stow Away Tibit Temp Logger”.

La experiencia se inició en tanques independientes con refugios de PVC, en forma de teja, donde se mantuvieron 80 ejemplares, con una talla inicial de $5,475 \pm 0,110$ mm, y se utilizó una réplica para cada ensayo (Fig. 94).

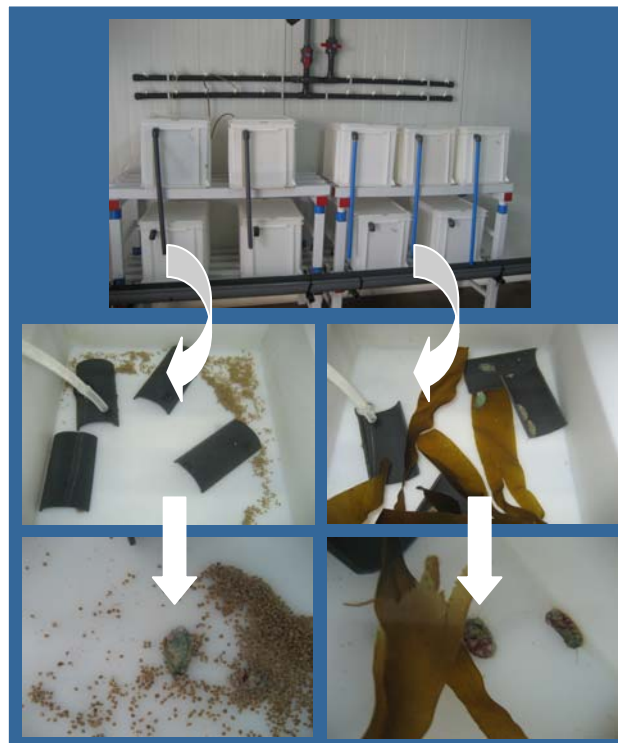


Figura 94. Detalle de los tanques de semilla alimentadas con pienso y algas

Los alimentos utilizados fueron algas frescas de la Fam. Laminariaceae (Guerra, A. et col. 1996) obtenidas del medio natural y pienso extruido comercial (de la marca Le Gouessant y cuya composición se indica en la Figura 89).

Para estudiar el resultado de la alimentación inerte en el proceso de destete se emplearon miga (Figura 96): de 500 a 1000 micras de diámetro, y miga NA 3, de 1000 a 1800 micras. La composición química se indica a continuación. La experiencia se inició

sin dietas mixtas ni adaptación previa a cada tipo de alimento. En el caso de las algas se observó que iniciaron la ingesta en 24 horas. Los ejemplares con pienso, en cambio, tardaron entre 4 y 5 días en comenzar a consumirlo, sin dejar de alimentarse una vez superado este proceso de aclimatación.

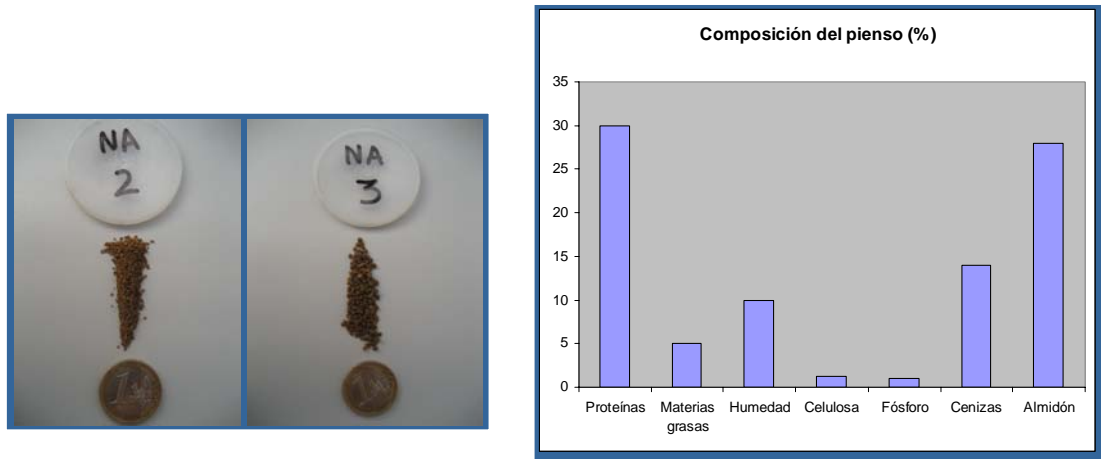


Figura 95. Miga NA 2 y Miga NA 3 y composición química (dato de fabricante)

La experiencia de destete se realizó entre los meses de febrero y julio de 2008 (134 días de cultivo), y se obtuvieron tallas medias finales de $15,55 \pm 2,17$ mm, en los ejemplares alimentados con algas y de $18,18 \pm 3,91$ mm, en los individuos alimentados con pienso (Fig. 96).

El crecimiento medio diario fue, respectivamente de 74,79 y 95,65 micrómetros.



Figura 96. Detalle de la semilla sometida a los ensayos de destete

Se comprobó que no existían diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en el crecimiento entre los dos grupos alimentados con algas, ni entre los alimentados con pienso. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el crecimiento entre los dos tipos de dieta.

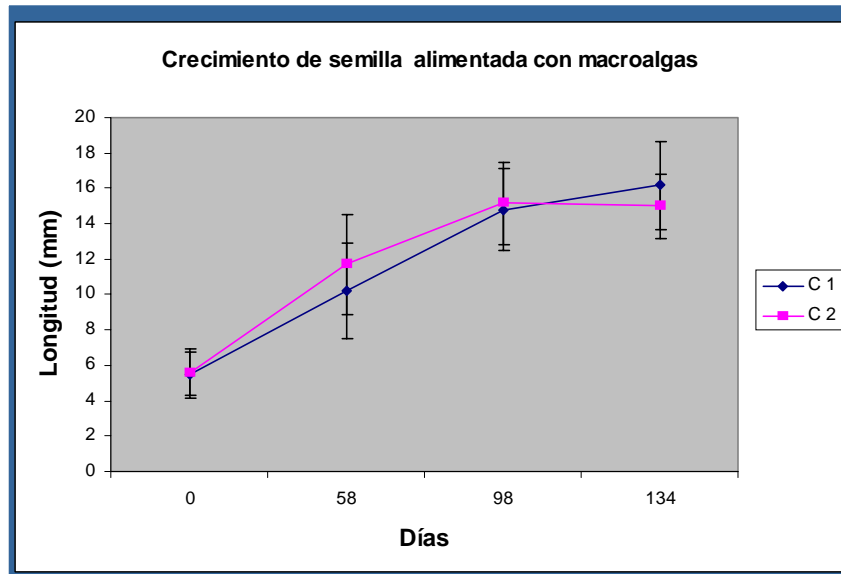


Figura 97. Crecimiento de ejemplares con microalgas

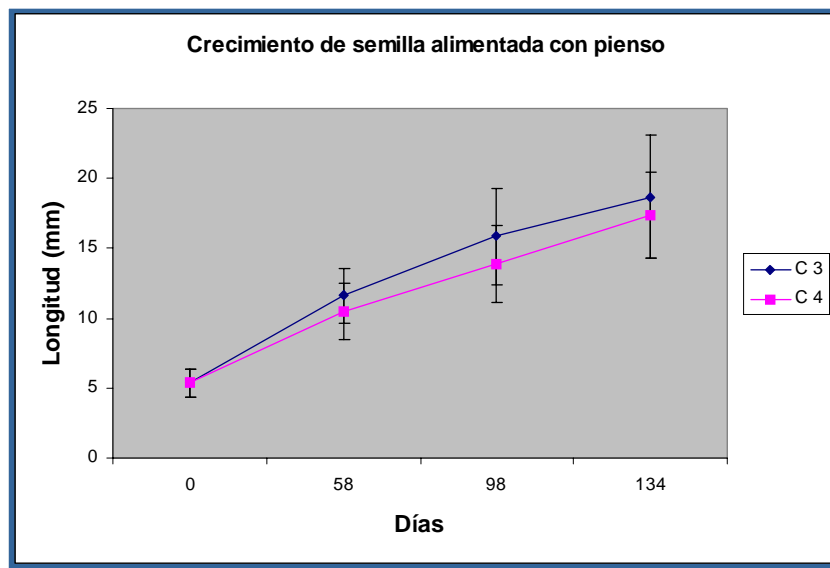


Figura 98. Crecimiento de ejemplares con pienso.

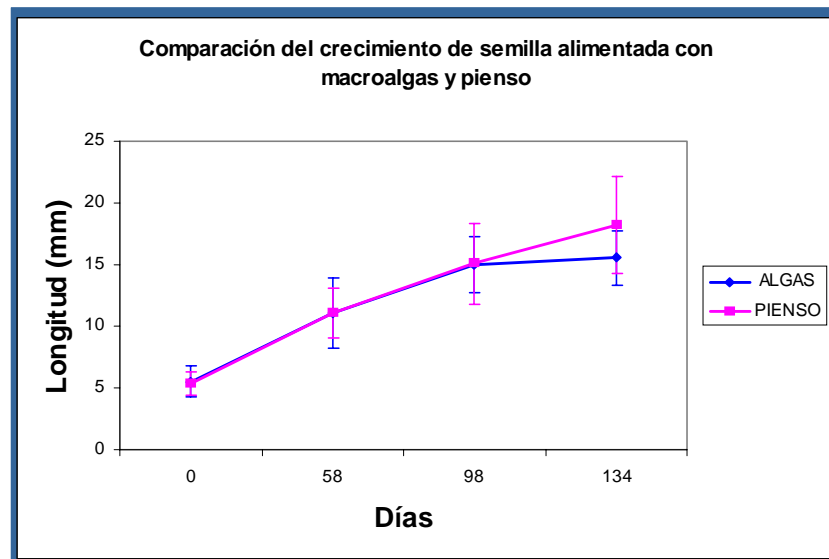


Figura 99. Crecimiento de semilla con macroalgas y pienso

Con los datos obtenidos en esta experiencia se realizaron las correspondientes rectas de regresión y se observaron similares modelos de crecimiento (Fig. 100)

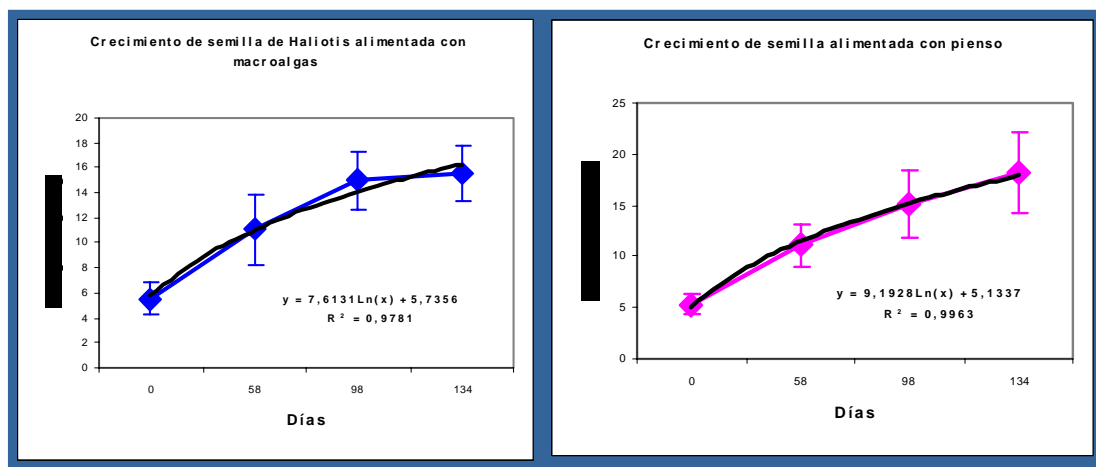


Figura 100. Líneas de regresión y ajuste en semilla mantenida con macroalgas y pienso.

Por tanto el ensayo de las dietas seleccionadas compuestas por pienso y macroalgas frescas, respectivamente, para la alimentación de semilla en el momento de la transición alimenticia, desde diatomeas bentónicas a macroalgas o pienso ofreció resultados similares, para la fase de cultivo analizada en el presente trabajo utilizando macroalgas o pienso.

CONCLUSIONES

Se ha logrado mejorar el manejo de cultivos larvarios de *Haliotis tuberculata* empleando sistemas abiertos, de flujo dirigido y fijación en placas dentro de los propios tanques larvarios.

La alimentación con pienso de destete en ejemplares a partir de 5 mm. de talla se mostró eficaz como alternativa a la alimentación con placas fitocolonizadas. Con altas supervivencias y crecimientos comparables a los obtenidos con las dietas clásicas.

El sistema de acondicionamiento de ejemplares reproductores con distintos fotoperiodos (oscuridad, fotoperiodo normal y fotoperiodo adelantado), a temperatura constante, permitió ingestas diarias adecuadas en las tres condiciones ensayadas, siendo en los fotoperiodos de oscuridad en los que se producía un mayor consumo de alimento.

(Sin embargo no parece que sea en esas condiciones en las que mejor se alcance la madurez y puesta, por lo que habría que realizar ensayos para determinar si sería preciso emplear regímenes de luz previos a la puesta).

El aislamiento y selección de diatomeas bentónicas autóctonas permitió altas tasas de fitocolonización y disponibilidad de alimento en los sistemas empleados para la fijación de larvas.

Línea 4: Difusión de la información (P₁, P₂ y P₃)

IV. 1. Publicación en revistas de impacto

CANARIAS (P₁)

- **Embrionic and larval development of *Haliotis tuberculata coccinea* Reeve: an indexed micro-photographic sequence.** Journal of Shellfish Research, Vol. 26, No. 3, 847-854, 2007

G. Courtois de Viçose, M.P. Viera, A. Bilbao and M. Izquierdo.

Journal of Shellfish Research, Vol. 26, No. 3, 847-854, 2007.

EMBRYONIC AND LARVAL DEVELOPMENT OF *HALIOTIS TUBERCULATA COCCINEA* REEVE: AN INDEXED MICRO-PHOTOGRAPHIC SEQUENCE

G. COURTOIS DE VIÇOSE,* M. P. VIERA, A. BILBAO AND M. S. IZQUIERDO
Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) ICCM & ULPGC P.O. Box 56. 35200 Telde,
Las Palmas, Islas Canarias, España

ABSTRACT First description of the complete embryo and larval development of the Canarian abalone (*Haliotis tuberculata coccinea* Reeve) was conducted along 39 stages from fertilization to the appearance of the third tubule on the cephalic tentacles and illustrated in a microphotographic sequence. Eggs obtained by induced spawning with hydrogen peroxide from the GIA captive broodstock were stocked at a density of 10 eggs/mL and kept at 23±0.5°C for 62 h until the formation of the third tubule. Live eggs and larvae were continuously observed on a 24 h basis at a ×400 magnification under transmitted light. At each stage, specific morphological features, illustrated by microscopic photographs, were described, as well as the time required for their apparition. Fertilized eggs diameter was 205 ± 8 µm (mean ± SD), whereas length and width of larvae ready to undergo metamorphosis were 216.6±5.3 µm and 172±8.8 µm, respectively. Knowledge on the larval morphological development acquired through this study will contribute to the improvement of larval rearing techniques for this abalone species.

KEY WORDS: abalone, embryonic and larval development, *Haliotis tuberculata coccinea*

INTRODUCTION

The abalone life cycle includes larval, postlarval, juvenile, and adult stages. Larval development is a gradual process that does not occur in discrete stepwise stages. However, various stages can be recognized during larval development and larval development rate is determined by the time larvae require to show certain distinctive features (Hahn 1989). In *Haliotis discus hannai*, Iino (1952) identified distinct larval stages with recognizable external features. These morphological features and the order of their appearance in larval developmental stages provided the guidelines for studies of larval development in other abalone species (Ohta 1964, Leighton 1974, Seki & Kan-no 1977, Koike 1978, Owen et al. 1984, Peña 1984, 1986). Hence, larval stage begins with fertilization and is completed with the formation of the fourth tubule on the cephalic tentacles, although larvae are considered ready for settlement when the third tubule appears and larvae starts to explore the surface (Hahn 1989).

Haliotis tuberculata coccinea Reeve; an abalone subspecies present in the Macaronesian Archipelago grows to a maximum size of about 80 mm in shell length and is considered gourmet seafood in the Canary Islands. During decades this subspecies has been commercially exploited for the local market in the Canary Islands leading to an overexploitation of its stocks, which are presently almost depleted. Therefore, there is a great interest to develop the culture techniques of this species because of its high market value and the interest in recovering its wild populations by restocking. Several studies have been conducted to better understand the physiology of this species and its behavior under captive conditions (Peña 1986, Toledo et al. 2000, Viera et al. 2003, Viera et al. 2005). However, production of seeds remains a major bottleneck for the commercial production of this species, studies related with its embryonic and larval development being scarce and insufficient to allow the

development of larval rearing techniques. Certain stages of the embryonic development of *Haliotis tuberculata coccinea* were partially described by (Peña 1986) with their respective developmental rates being determined at 15°C, a temperature out of the natural range, 17–24°C, for this subspecies. Thus, the present research was conducted to study the complete embryonic and larval development of *Haliotis tuberculata coccinea* under natural temperature conditions, describing and illustrating for the first time; with photographic support; the morphological features characteristic of each stage and the time required for their apparition.

MATERIAL AND METHODS

Captive *Haliotis tuberculata coccinea* broodstock were kept under dark conditions in 60-L tanks with a flow through system at the Instituto Canario de Ciencias Marinas (Canary Islands, Spain). Water temperature was kept at 23 ± 0.5°C along the experiment, which was carried out during November 2005. Broodstock were fed a mix diet of *Ulva rigida*, *Gracilaria cornuta*, and *Hypnea spinella* twice a week. Abalone showing mature gonads in stage 3 (Ebert & Houk 1984) were transferred to be induced to spawn.

Eight males and 14 females (58.2 ± 4.54 mm and 32.9 ± 8.36 g) were placed separately by sex into two 10-L spawning aquaria filled with 1-µm filtered and UV sterilized seawater. They were induced to spawn using the hydrogen peroxide method (Morae et al. 1977). Aquaria were kept in the dark during spawning. Released oocytes were collected in 10-L containers and fertilized, with a final sperm concentration of 10⁷/mL, during 30 min. After that period eggs were rinsed with fresh seawater refills to remove excess sperm and fertilization rates were determined by the proportion of eggs showing dividing cells 1 h after fertilization. Fertilization rate estimate was performed by taking three 3-mL sample from fertilization containers. Fertilized eggs were allowed to develop until the trochophore stage in the hatching containers. Trochophore larvae

*Corresponding author. E-mail: gtricolor@hotmail.com

- **Efficiency of clove oil as anaesthetic for abalone (*Haliotis tuberculata coccinea*, Reeve) (Aquaculture Research, en revisión).**

Bilbao, A., Courtois, G., Viera, M.P., Sosa, B., Fernández-Palacios, H. y Hernández-Cruz, C.

IV. 2. Trabajos de investigación

CANARIAS (P₁)

- **Reproducción, fecundidad y crecimiento del abalón (*Haliotis tuberculata coccinea*, Reeve 1846) en las Islas Canarias.**

Trabajo presentado para la obtención del DIPLOMA DE ESTUDIOS AVANZADOS (DEA) por Dña. Amaia Bilbao Villena.

- **Optimización del cultivo de diatomeas bentónicas para el cultivo de post-larvas de abalón.**

Tesina presentada para Dña Anastasia Porta Vales para la obtención del título de Máster Internacional en Acuicultura de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

IV.3. Presentaciones a congresos

Parte de los resultados derivados del proyecto han sido presentados en distintos congresos nacionales e internacionales:

CANARIAS (P₁)

XIII INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FISH NUTRITION AND FEEDING

Florianópolis, Brasil, Mayo 2008

- **Effect of density on growth rates of *Navicula incerta*, *Proschkinia* sp., *Nitzschia* sp., and *Amphora* sp., their biochemical composition and potential as feed for *Haliotis tuberculata coccinea* post-larvae**

Courtois de Vicose, G., Porta, A., Viera, M.P., Bilbao, A., Izquierdo, M.S

Resumen

Benthic diatoms are the main source of food of post-larval abalone until animals are able to feed on macroalgae. Diatom cells quantity and their biochemical composition are therefore influencing juveniles growth rates and survival but they also are variable between species and are greatly affected by harvest stage, and culture methods. This study compares growth pattern, cell attachment and biochemical composition of four diatoms, *Navicula incerta*, *Proschkinia* sp, *Nitzschia* sp and *Amphora* sp. grown at variable cell densities, under controlled culture conditions. The total protein, carbohydrate, lipid and ash

compositions, of the four species were studied. All species were grown under identical conditions (temperature 28.5 ± 1.4 degree C, light intensity 5403 ± 649 Lux, and F/2 medium). at different original inoculating densities of 50000, 100000 and 250000 cells/ml and were harvested in exponential and stationary growth phase for biochemical analysis. The results show that all diatoms species presented better growth rates when inoculated at 100000 cells/ml with *Proskinia* sp showing the significantly highest one reaching, at logarithmic and stationary phases, $4.13 \cdot 10^6 \pm 0.49 \cdot 10^6$ and $6 \cdot 10^6 \pm 0.35 \cdot 10^6$ cells/ml respectively. *Amphora* sp, had the highest cell attachment capacity when inoculated at 100000 cells/ml (11000 ± 1500 cells/mm²). Protein and lipids (as % of dry weight) were generally highest in cells during logarithmic phase; *Amphora* sp in exponential phase had significant higher lipid content; whereas significant differences in carbohydrate between the two phases were only observed for *Proskinia* sp. There were no significant differences in ash content among the four diatoms species. The results suggest the importance of culture and harvest protocols for diatoms large scale cultivation as well as the selection of diatoms species. The growth and survival of juvenile abalones fed the four diatoms were monitored in response to the diatoms biochemical composition.

- **Comparative performances of juveniles abalone (*Haliotis tuberculata coccinea*) fed on enriched and non enriched macroalgae.**

Viera, M.P., Gómez-Pinchetti, J.L., Courtois de Vicose, G., Bilbao, Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S

Resumen

A 12-weeks feeding trial was conducted to determine the nutritional value of 8 macroalgae dietary treatments for juvenile abalone *Haliotis tuberculata coccinea*: In the first 4 treatments, algae were reared with fresh seawater: the first 3 of them consisted of feeding a single macroalgae, *Ulva rigida*, *Hypnea spinella*, or *Gracilaria cornea*, respectively and the fourth one included a mix of them. In remaining 4 treatments, the same previously described dietary treatments were used, but the algae were then produced with fishpond waste water effluents. Biological parameters related to growth and survival, feed intake and feed utilization were studied along the trial and nutritional composition of macroalgae and abalone were analyzed at the end. Both algae species and algal culture system markedly affected the nutritional quality of the dietary treatments. Feeding *G. cornea* macroalgae, regardless the algae culture system, lead to the lowest abalone growth performance and the lowest feed intake. Seaweeds reared in fishpond waste water effluents increased their protein content in comparison with coastal seawater reared ones from 11.3-16.6% to 29.3-33.8%, denoting the higher nitrogen availability conditions in the biofilter system. Hence, biofilter produced macroalgae denoted a significantly better dietary value than algae produced in coastal seawater. Finally, abalone fed on the enriched mixed macroalgae diet showed a significantly higher growth performance, in length (151 ± 3.9 μ m day⁻¹) and weight (560.8 ± 7.1 %) than abalone fed any of the other dietary treatments. Nevertheless, survival rates of juvenile abalone were very good (85-100%) regardless the algae fed.



XI CONGRESO NACIONAL DE ACUICULTURA Vigo 2007

- **Efecto de tres anestésicos en *Haliotis tuberculata coccinea* (Gastropoda) y la aplicabilidad del aceite de clavo en el cultivo de abalón**

A. Bilbao, M.P.Viera, G. Courtois de Vicose, J.Roo, H. Fernández-Palacios y M. Izquierdo

Resumen

Tres métodos químicos fueron evaluados para inducir la relajación de *Haliotis tuberculata coccinea* (50-80mm en longitud de concha): sodio pentobarbital (120mg/2l), 2-phenoxyethanol (4ml/2l) y el aceite de clavo a tres concentraciones diferentes (0,04, 0,1 y 1ml/2l). Se midió el tiempo requerido para que los animales se desprendieran de las paredes de los acuarios y el tiempo de recuperación de cada animal. No se observó mortalidad en ningún tratamiento transcurrida una semana de exposición al anestésico. Los tres métodos dieron lugar al desprendimiento de los animales de las paredes en 10-30min., sin embargo, fueron ineficaces como relajantes musculares, puesto que el músculo del pie resultó duro y contraído. Los mejores resultados ensayados con el aceite de clavo, se obtuvieron a una concentración de 1ml/2l a 22°C.

- **Evaluación de *Ulvella lens*, algas coralinas y diatomea *Navicula incerta* como inductores de fijación para las larvas de *Haliotis tuberculata coccinea***

G. Courtois de Vicose, M.P. Viera, A. Bilbao, H. Fernández-Palacios, M.S. Izquierdo

Resumen

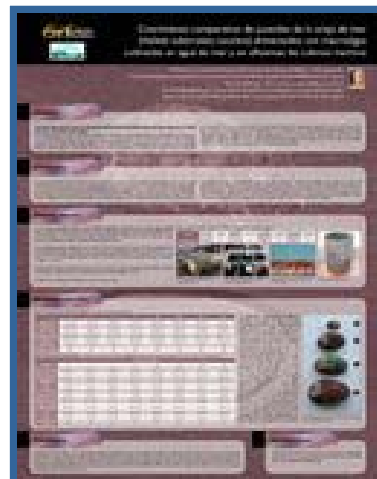
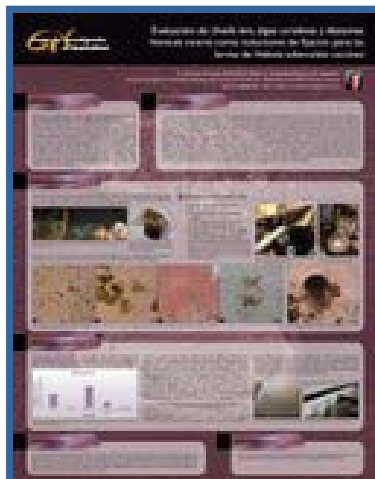
Settlement and metamorphosis of *H. tuberculata coccinea* larvae were examined in the presence of four inductive settlement cues, coralline algae, *N. incerta*, *U. lens* and *U. lens* + *N. incerta*. Larval settlement success differed significantly with substrate type, being the highest for the coralline algae, followed by a settlement of up to 22% on *U. lens*. Settlement was reduced on *U. lens* inoculated with the diatom *N. incerta* but was significantly higher than on films of the diatom alone. We suggest that plates seeded with coralline algae and *U. lens* will provide a reasonable settlement of *H. tuberculata coccinea* post-larvae. Seeding of plates with *U. lens*, due to the easiness of its manipulation compare to coralline algae, could be considered a convenient methodology for the rearing of *H. tuberculata coccinea* in mass culture systems

- **Crecimiento comparativo de juveniles de la oreja de mar (*Haliotis tuberculata coccinea*) alimentados con macroalgas cultivadas en agua de mar y en efluentes de cultivos marinos**

M.P. Viera, J. L. Gómez Pinchetti, G. Courtois de Vicose, A. Bilbao y M.S. Izquierdo

Resumen

Juveniles de oreja de mar fueron alimentados durante tres meses con 8 dietas macroalgales: 3 dietas monoalgales y una mixta, producidas con agua de mar (U; H; G; M), y los mismos 4 tratamientos producidos en efluentes de cultivos marinos (UN; HN; GN; MN). Se comparó el valor nutricional de los tratamientos, mediante el análisis de la composición nutricional y el contenido calórico de las algas y su relación con la supervivencia, el crecimiento de los animales y el consumo de alimento. El cultivo de las algas en efluentes marinos aumentó su contenido en proteínas de 11,3-16,6% hasta 29,3-33,86%. De forma general, todas las algas producidas en los biofiltros mostraron un valor dietético significativamente mayor que las producidas en agua de mar. Los animales alimentados con la dieta mixta (MN), tuvieron un elevado crecimiento en talla y peso ($151 \pm 3,9 \mu\text{m día}^{-1}$ y $560,8 \pm 7,1 \%$), siendo significativamente mayor que el del resto de los ejemplares experimentales.



VI INTERNACIONAL ABALONE SYMPOSIUM Chile, 2006

- **Yield, biofiltering efficiencies and nutritional composition of *Gracilaria cornea* J. Agardh and *Ulva rigida* C. Agardh cultivated with marine fish waste waters**

M.P. Viera, A. Bilbao, S. Suárez Alvarez, G. Courtois de Vicose, J. L. Gómez Pinchetti, C.M. Hernández-Cruz y R.J. Haroun

Resumen

This work reviews the yield, biofiltering efficiencies and nutritional composition of the macroalgae *Gracilaria cornea* J. Agardh and *Ulva rigida* C. Agardh cultivated with marine fish waste waters proceeding from an industrial land-based fish farm and our aquaculture research facility. Macroalgae species were chosen according to their biofiltering efficiency and suitability as feed for the abalone *H. tuberculata coccinea* determined by previous studies. Protein, lipid and carbohydrate contents of the seaweed produced is also discussed. Growth rate and total production reached values of $10.24 \pm 2.52 \%d^{-1}$ and $70.04 \pm 24.68g PS m^{-2} d^{-1}$ for *U. rigida* and $5.08 \pm 2.01 \%d^{-1}$ and $43.74 \pm 19.43^a g PS m^{-2} d^{-1}$ for *G. cornea*. The ammonia removal efficiencies were 74% and 61% for *U. rigida* and *G. cornea* respectively. The proximate composition of the algae (protein content: 33-41% DW, lipid: 2,2-4,4% DW and carbohydrate: 51-60% DW) was in the range of values of other species of seaweeds used as feed for abalone. These high levels of protein content observed in the algae of the present study would be related to its production under the high nitrogen culture conditions.

- **Gonadal cycle of reproductive females and fecundity study of Canarian abalone, *Haliotis tuberculata coccinea*, Reeve**

A. Bilbao, M.P. Viera, G. Courtois de Vicose, H. Fernández-Palacios y M.S. Izquierdo

Resumen

Haliotis tuberculata coccinea Reeve (1846) is distributed along the coast of the Macaronesian Archipelago and the Gilbartar Strait in the Atlantic Ocean (Geiger, 2000). It grows to a maximum size of about 8 cm in shell length and is considered gourmet seafood in Canary Islands. Recent studies focused on growth rate of animals fed macroalgae (Viera et al., 2005) and artificial spawning induction (Peña, 1985, 1986; Viera et al., 2003) of this species indicate that may be an ideal species for Canarian aquaculture until now limited to fish culture. A study of the annual reproductive gonadial cycle was conducted on *H. tuberculata coccinea* R. females in Gran Canaria Island (Spain). Two indicators were used: gonadosomatic visual index (GBI) and oocytes diameter. Results showed that two populations of oocytes coexist in the ovary; bigger size oocytes ready to be spawned in the current season and smaller-size ones that could be released during the next spawning event. This study suggested that Canarian abalone appeared capable of spawning all year round, with two spawning peaks. Fecundity, considered as the total number of oocytes present in a ripe gonad was calculated for females divided into three classes according to shell length. This study demonstrated that fecundity was linearly correlated to length ($R^2=0.97$). The number of oocytes present in a mature female gonad of 55-65 mm shell length

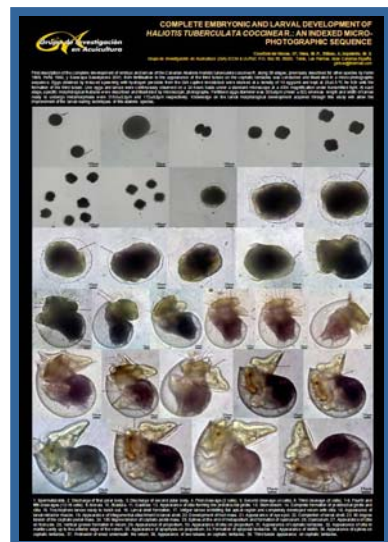
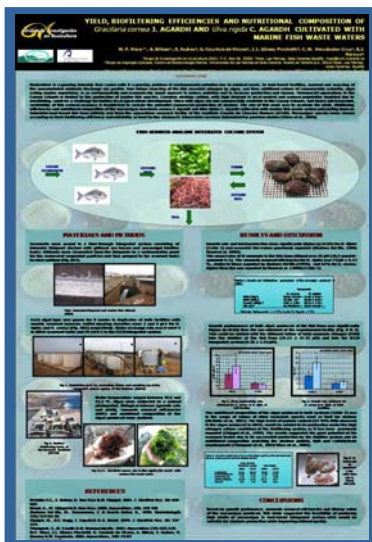
(776.678±99.035 oocytes) was significantly higher than those observed in females of 45-54mm (301.565±90.196) and 35-44mm shell length (173.720±57.162 oocytes). These results suggested that, females at a shell length of 55-65 mm could be considered suitable broodstock for hatchery activities.

• **Embriology and complete larval development of *Haliotis tuberculata coccinea* R. : an indeseq micro-photografic sequence**

G. Courtois de Vicose, M.P. Viera, A. Bilbao y M.S. Izquierdo

Resumen

First description of the complete development of embryo and larvae of the Canarian Abalone *Haliotis tuberculata coccinea* Reeve. along 39 stages; from fertilisation to the appearance of the third tubule on the cephalic tentacles; was conducted and illustrated in a micro-photographic sequence. Eggs obtained by induced spawning with hydrogen peroxide from the GIA captive broodstock were stocked at a density of 10 eggs/ml and kept at 23±0.5 °C for 62h until the formation of the third tubule. Live eggs and larvae were continuously observed on a 24 hours basis under a standard microscope at a 400x magnification under transmitted light. At each stage, specific morphological features were described, as well as the time required for their apparition, and illustrated by microscopic photographs. Fertilised eggs diameter was 205±8µm (mean ± SD) whereas length and width of larvae ready to undergo metamorphosis were 216.6±5.3µm and 172±8.8µm respectively. Knowledge on the larval morphological development acquired through this study will allow the improvement of the larval rearing techniques of this abalone species.



8ª CONFERENCIA ATLÁNTICA DE MEDIO AMBIENTE. Fuerteventura, Abril 2008

- Impartición de la charla: **Cultivo de la “almeja canaria” (oreja de mar): situación actual y perspectivas para Canarias**”, por parte de Dña Mª del Pino Viera Toledo

IV.3. GALICIA (P₂)

XI CONGRESO NACIONAL DE ACUICULTURA Vigo 2007

- **Desarrollo reproductivo y acondicionamiento de la oreja de mar (*Haliotis tuberculata* Linnaeus, 1758) en Galicia (Noroeste de España)**

M.C. Andrés, M.A. Lastres, I. Santamaría, M. Ruiz y A. Guerra (Tomo I, pags. 623-626)

Resumen

En el presente trabajo se estudia el desarrollo reproductivo en dos poblaciones autóctonas de *Haliotis tuberculata*, L., y se presentan los datos preliminares obtenidos en el ensayo del acondicionamiento de reproductores de dicha especie, utilizando tres fotoperiodos distintos. Los individuos fueron capturados mediante técnicas de buceo en apnea, a partir de poblaciones localizadas en dos puntos diferentes de la costa de Galicia (Illa de Arousa, en el interior de la Ría de Arousa; e Illas Cíes, en la boca exterior de la Ría de Vigo).



X FORO DOS RECURSOS MARIÑOS E DA ACUICULTURA DAS RÍAS GALEGAS

I Foro Iberoamericano dos Recursos Mariños e da Acuicultura

- **Cultivo y gestión de la oreja de mar (*Haliotis tuberculata spp.*)**

M.A. Lastres, M.C. Andrés, I. Santamaría, M.J. Ruborosa, C. Ancosmede, N. Pérez y A. Guerra

Resumen

A través del proyecto JACUMAR “Cultivo y gestión de la oreja de mar *Haliotis tuberculata spp.*”, se evalúa la potencialidad comercial de esta especie en España, a partir de la información aportada por los diferentes grupos de investigación de las comunidades autónomas participantes (Canarias, Galicia y Asturias). Se pretende además lograr mejoras en las técnicas de producción, para conseguir la introducción en el mercado de un nuevo producto procedente de la acuicultura. En este trabajo se exponen, de forma resumida, las líneas que desarrollan los grupos de investigación de la C.A. de Galicia, a través de los Centros (CIMA- Corón, CIMA- Ribadeo e IGafa), pertenecientes a la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos de la Xunta de Galicia.



IV.3. ASTURIAS (P₃)

XI CONGRESO NACIONAL DE ACUICULTURA Vigo 2007

- **Ciclo gametogénico de *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758) en dos poblaciones naturales del Principado de Asturias**

J. López Ruiz, C. Rodríguez Rodríguez y J.F. Carrasco

Resumen

Se describe el ciclo gametogénico de dos poblaciones naturales de *Haliotis tuberculata* en el Principado de Asturias: zona occidental (Tapia de Casariego) y zona central (Gijón). La gametogénesis presenta un ciclo anual. La madurez sexual se produce en el mes de mayo en ambas poblaciones. El desove se inicia en junio y se extiende hasta noviembre en Tapia y hasta octubre en Gijón. La época de máximo desarrollo gonadal coincide cuando se registran las mayores temperaturas en el medio. La similitud de las

condiciones ambientales encontrada en ambas zonas concuerda con la sincronía en el ciclo gametogénico de las dos poblaciones.

- **Engorde de oreja de mar, *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758), con distintas especies de macroalgas.**

J. López Ruiz, C. Rodríguez Rodríguez y J.F. Carrasco

Resumen

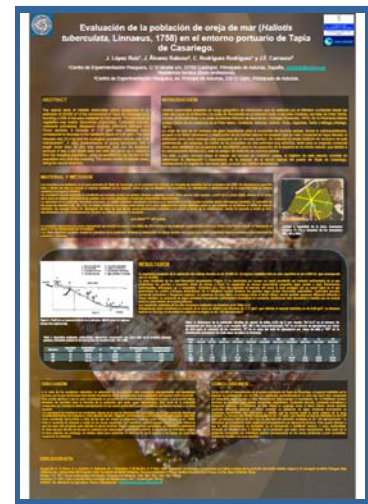
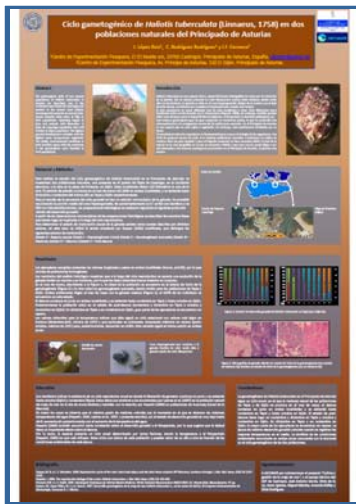
Ejemplares de oreja de mar (*Haliotis tuberculata*) fueron recolectados en la costa asturiana para la realización de una prueba de engorde con tres especies de macroalgas presentes en el litoral. Se hicieron 4 lotes, tres alimentados con una monodieta de las algas *Laminaria ochroleuca*, *Ulva sp.*, *Fucus serratus* y el cuarto con una dieta mixta que contiene las tres especies anteriores. La experiencia duró tres meses y los mejores resultados se obtuvieron con la dieta a base de *Ulva sp.*, con una tasa de crecimiento en concha de 56,89 μm al día, un crecimiento específico de 0,36% al día, una ganancia en peso del 38,81% y un Índice de Conversión de Alimento de 29,89. La dieta a base de *Fucus* se desecha como alimento para este molusco por presentar unas tasas muy bajas y una mortalidad del 75,5%.

- **Evaluación de la población de oreja de mar (*Haliotis tuberculata*, Linnaeus, 1758) en el entorno portuario de Tapia de Casariego.**

J. López Ruiz, J. Álvarez Raboso, C. Rodríguez Rodríguez y J.F. Carrasco

Resumen

Se muestreó el banco natural de *Haliotis tuberculata* en el entorno portuario de Tapia de Casariego con una extensión de 20.000 m², de los que el 23% corresponde con espacio habitable. Se determinó la vegetación acompañante, formada principalmente por *Saccorhiza polyschides*, *Cystoseira baccata*, *Laminaria ochroleuca*, *Sargasum muticum*, *Bifurcaria bifurcata* y *Fucus serratus*. La biomasa obtenida fue de 1,17 g/m², que referida al espacio habitable es de 5,06 g/m². La biomasa total es de 23,4 kg y la densidad de población ecológica es de 1,55 ejemplares/m². Se observó una clara predominancia de ejemplares jóvenes de talla inferior a los 20 mm, que puede ser debido a que la zona se encuentra a poca profundidad, sirviendo de semillero para la fracción de la población que actúa como reproductora. La parte de la población compuesta por individuos adultos permanecería en las zonas profundas y poco accesibles, aportando reclutas a la zona superior.



XI FORO DE LOS RECURSOS MARINOS Y ACUICULTURA (9-10 de octubre de 2008). La Toja, España.

- **Engorde de oreja de mar, *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758), con distintas dietas a base de *Ulva sp.* y piensos semihúmedos (*Ulva sp.* y *Ulva sp.* enriquecida)**

López Ruiz, D. Gonzalez-Nuevo, C. Rodríguez Rodríguez y J.F. Carrasco

Resumen

Ejemplares de oreja de mar (*Haliotis tuberculata*, Linnaeus, 1758) fueron recolectados en la costa asturiana para la realización de una prueba de engorde con tres dietas distintas a base de *Ulva sp.* fresca, pienso semihúmedo de *Ulva sp.* y pienso semihúmedo de *Ulva sp.* enriquecida con gelatina. Se hicieron 3 grupos de 30 individuos

con una réplica por grupo. La experiencia duró 133 días y no se encontraron diferencias significativas según el test ANOVA en cuanto a crecimiento entre las tres dietas. Sin embargo, en cuanto a las tasas e índices empleados, los mejores resultados se obtuvieron con la dieta a base de *Ulva sp.*, con una Tasa de Crecimiento en Concha de 28.49 μm al día, un Crecimiento Específico de 0.26% al día, una Ganancia en Peso del 41.9% y un Índice de Conversión de Alimento de 25.88. La gelatina se desecha como suplemento alimenticio al ofrecer los peores resultados.

- **Evaluación de un posible crecimiento diferencial entre *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758), y *Haliotis tuberculata coccinea* (Reeve, 1846).**

González–Nuevo, D.; López, J.; Rodríguez, C. y Carrasco, J.F.

Resumen.

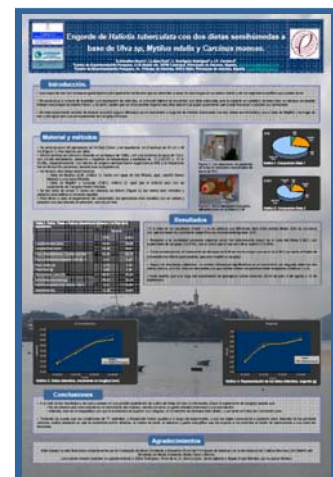
Se comparan tasas e índices de crecimiento entre *Haliotis tuberculata*, procedente de la costa asturiana y *Haliotis tuberculata coccinea* procedente del criadero del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Las condiciones de estabulación fueron similares así como el alimento suministrado. Los resultados no ofrecen diferencias significativas entre ambas subespecies y procedencias.

- **Engorde de *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758) con dos dietas semihúmedas a base de *Ulva sp.*, *Mytilus edulis* y *Carcinus maenas*.**

González–Nuevo, D.; López, J.; Rodríguez, C. y Carrasco J.F.

Resumen

Se comparan dos dietas semihúmedas a base de agua de mar, *Ulva sp.* seca y mejillón fresco triturados y otra igual pero con cangrejo fresco triturado. Los resultados en cuanto a crecimiento en longitud y peso fueron buenos aunque el aporte extra de cangrejo no representó una clara diferencia y ventaja en el crecimiento por lo que no se considera necesario su introducción de cara a una mayor rentabilidad en su explotación. Destacar que la mortalidad en el caso del suplemento de cangrejo fue superior por tanto se desecha la opción del suplemento de cangrejo en la dieta.



II FORO IBEROAMERICANO DE LOS RECURSOS MARINOS Y LA ACUICULTURA

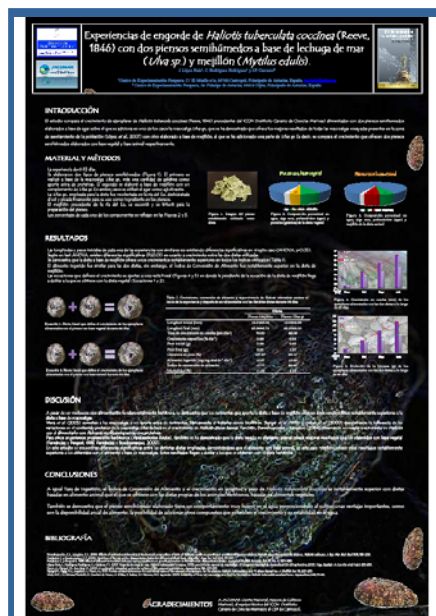
Noviembre, 2008. Cumaná, Venezuela.

- **Experiencias de engorde de *Haliotis tuberculata coccinea* (Reeve, 1846) con dos piensos semihúmedos a base de lechuga de mar *Ulva sp.* y mejillón *Mytilus edulis*.**

J. López Ruiz, C. Rodríguez Rodríguez y J.F. Carrasco

Resumen

La oreja de mar es un gasterópodo que se alimenta de macroalgas disponibles en su entorno. Por otra parte, también la proteína animal representa un complemento fundamental para el crecimiento de los individuos. El estudio compara el crecimiento de ejemplares de *Haliotis tuberculata coccinea* procedentes del Instituto Canario de Ciencias Marinas alimentados con dos piensos mixtos semihúmedos elaborados a base de agar sobre el que se adiciona en uno de los casos la macroalga *Ulva sp.* y gelatina como aporte de proteínas, con el que ofrece otro elaborado a base de mejillón, al que se ha adicionado una parte de *Ulva sp.* El experimento duró 92 días y se utilizaron ejemplares con tallas de 19.63 ± 3.02 y 19.54 ± 3.00 mm para pienso de *Ulva* y mejillón, respectivamente. En cada una de las dietas, se dispusieron tres réplicas de 20 individuos cada una. Para determinar los crecimientos y la eficiencia de los alimentos se calculó la Tasa de Crecimiento en Concha (TCC), la Tasa de Crecimiento Específico (TCE), la Ganancia en Peso (GP), el Índice de Conversión de alimento (IC) y las ecuaciones que definen el crecimiento. Los datos obtenidos demuestran que la dieta a base de mejillón ofrece mejores resultados en todos los índices utilizados. Así, la TCC fue de $70.00 \mu\text{m} \times \text{día}^{-1}$ frente a las $42.06 \mu\text{m} \times \text{día}^{-1}$, la TCE fue del $0.89\% \times \text{día}^{-1}$ frente al $0.53\% \times \text{día}^{-1}$, la GP fue del 127.27% frente al 63.15% y el IC de 15.77 frente a 26.25. Las ecuaciones que definen el crecimiento se ajustan a una recta lineal. La pendiente de la ecuación que define el crecimiento de la dieta a base de mejillón ($y = 2,12x + 17,79$; $R^2 = 0,98$) llega a doblar prácticamente a la obtenida con la dieta a base de *Ulva* ($y = 1,25x + 18,72$; $R^2 = 0,95$).



IV.4. Divulgación para la transferencia de tecnología

CANARIAS (P₁)

En el mes de mayo de 2008 se realizó en el Instituto Canarios de Ciencias Marinas una presentación sobre el “**Cultivo de la *almeja canaria* (oreja de mar): situación actual y perspectivas para Canarias**”, ante el Viceconsejero de Pesca y otros miembros de la Viceconsejería de Pesca del Gobierno de Canarias, así como diversos empresarios del sector de la acuicultura. La finalidad de dicha charla fue dar a conocer los logros conseguidos por el Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA) en el cultivo de dicho molusco y la potencialidad del cultivo de la oreja de mar como especie para la diversificación de la producción acuícola del Archipiélago.

En este momento se está creando el marco administrativo para llevar a cabo una experiencia piloto con una empresa situada en la Isla de Lanzarote.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Ault, J.S. (1985). Some quantitative aspects of reproduction and growth of the red abalone, *Haliotis rufescens* SWAINSON. *J. World Maricul. Soc.* 16:398-425.
- Azevedo, C.; Balseiro, P.; Casal, G. y Gestal, C. 2006. Ultrastructural and molecular characterization of *Haplosporidium montforti* n. sp., parasite of the European abalone *Haliotis tuberculata*. *J. Invertebr. Pathol.*, 92, 23-32.
- Azevedo, C.; Casal, G. y Montes, J. 2008. Ultrastructural life cycle of *Haplosporidium montforti* (Phylum Haplosporidia), a parasite of the farmed abalone *Haliotis tuberculata* (Gastropoda). *Journal of Parasitology*, 94, 137-142.
- Azevedo, C.; Conchas, R. F.; Tajdari, J. y Montes, J. 2006. Ultrastructural description of new Rickettsia-like organisms in the commercial abalone *Haliotis tuberculata* (Gastropoda: Haliotidae) from the NW of Spain. *Dis. Aquat. Org.*, 71, 233-237.
- Barber, B.J. & Blake, N.J. (1991). Reproductive physiology. En S.E. Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture. Shumway (Ed.). Elsevier, Amsterdam. pp. 377- 409.
- Bernal, R.S., Espino, L.A.V., Beltran, C.A., 2000. Effect of biofilm density on grazing rates of *Haliotis fulgens* postlarvae. *Journal of Shellfish Research* 19, 532.
- Bravo, I.; 2004. Estudo da toxicidade da orella de mar (*Haliotis tuberculata*) na costa galega con especial interese na súa localización citohistoquímica. Tese de doutoramento. Universidade de Vigo.
- Bryan, P. J. & P. Qian. 1998. Induction of larval attachment and metamorphosis in the abalone *Haliotis diversicolor* (Reeve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 223:39-51.
- Buchal, M., Levin, J.-E., Langdon, C., 1998. *Dulse palmaria mollis* as a settlement substrate and food for the red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture* 165, 243
- Daume, S., Krsinich, A., Farrell, S., Gervis, M., 2000. Settlement, early growth and survival of *Haliotis rubra* in response to different algal species. *J. Appl. Phycol.* 12, 479-488.
- Daume, S., S. Brand-Gardner & W. J. Woelkerling. 1999. Preferential settlement of abalone larvae: diatom films vs. non-geniculate coralline red algae. *Aquaculture* 174:243-254.
- Demetropoulos, C.L., Langdon, C.J., 2004. Effects of nutrient enrichment and biochemical composition of diets of *Palmaria mollis* on growth and condition of Japanese abalone, *Haliotis discus hannai* and red abalone, *Haliotis rufescens*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 308, 185-206.
- Ebert, E.E., Houk, J.L., 1984. Elements and innovations in the cultivation of red abalone *Haliotis rufescens*. *Aquaculture* 39, 375-392.
- Fernández C. y Boudouresque C.F. 2000. Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* fed different artificial food. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 204: 131-141.
- Fernández C. y Pergent G. 1998. Effect of different formulated diets and rearing conditions on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 17, No. 5, 1571-1581.
- Gaspar, M.B. 1996. Bivalves do Litoral Oceánico Algarvio. Aspectos da biología, ecología e da pescaria dos mananciais de interese económico: aplicação á gestao dos recursos. Tesis Doctoral. Universidad de Faro. Portugal. pp 282.

- Gómez-Montes, L.; García-Esquivel, Z.; D'Abramo, L.R.; Shimada, A.; Vásquez-Peláez, C.; Viana, M.T. 2002. Effect of dietary protein:energy ratio on intake, growth and metabolism of juvenile green abalone *Haliotis fulgens*. *Aquaculture*, 220, 769–780.
- González-Nuevo, D., López, J., Rodríguez, C. y Carrasco, J.F. Evaluación de un posible crecimiento diferencial entre *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758) y *Haliotis tuberculata coccinea* (Reeve, 1846). *XI Foro de los Recursos Marinos y Acuicultura*. (9-10 de octubre de 2008). La Toja, España.
- Guerra, A., I. Seoane, V. Rodríguez, A. Fernández, D. Martínez y M. Lastres. 1996. Estudios sobre la alimentación de la oreja de mar (*Haliotis tuberculata* L.) en Galicia (N.O. España). *IX Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino*. Madrid. 160-161.
- Hahn, K.O., 1989. Handbook of Culture of Abalone and Other Marine Gastropods. CRC Press, Boca Ratonj, Florida, 331 pp pp.
- Hahn, K.O., 1989. Handbook of Culture of Abalone and Other Marine Gastropods. CRC Press, Kawamura, T., Kikuchi, H., 1992. Effects of benthic diatoms on settlement and metamorphosis of abalone larvae. *Suisanzoshoku* 40, 403-409.
- Harrison, A.J., Grant, J.F., 1971. Progress in abalone research. *Tasmanian Fish. Res* 5, 1-10.
- Hayashi, I. 1983. Seasonal Changes in Condition Factors and in C:N Ratio of the Foot of the Ormer, *Haliotis tuberculata*. *J. Mar. Biol. Asc.* U.K. 6385-95.
- Howard, D.W. & Smith, C.S. (1983). Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscks. *NOAA Technical Memorandum NMFS-F/NEC-25*. Woods Hole, Massachusetts. pp 97.
- Ino, T., 1952. Biological Studies on the Propagation of Japanese Abalone (Genus *Haliotis*). *Bulletin of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, 1-102.
- Kawamura, T. y Takami, H., 1995. Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed on four species of benthic diatom. *Fish. Sci.* 61, 357-358.
- Koike, Y., 1978. Biological and ecological studies on the propagation of the omer, *Haliotis tuberculata* Linnaeus. I. Larval development and growth of juveniles. *La Mer* 16, 124.
- Leighton, D.L., 1972. Laboratory observations on the early growth of the abalone, *Haliotis sorenseni*, and the effect of temperature on larval development and settling success. *Fish. Bull* 70, 373- 381
- Leighton, D.L., 1974. The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fish. Bull* 72, 1137.
- López, J.; Rodríguez, C.; Carrasco, J.F. (en prensa). Experiencias de engorde de *Haliotis tuberculata coccinea* (Reeve, 1846) con dos piensos semihúmedos a base de lechuga de mar (*Ulva sp.*) y mejillón (*Mytilus edulis*). *II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura*. 2008. Cumaná, Venezuela.
- López-Ruiz, J., González-Nuevo, D., Rodríguez Rodríguez, C., Carrasco, F.J. 2008. Engorde de oreja de mar, *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758), con distintas dietas a base de *Ulva sp.* y piensos semihúmedos (*Ulva sp.* y *Ulva sp.* enriquecida). *XI Foro de los Recursos Marinos y Acuicultura*. (9-10 de octubre de 2008). La Toja, España.

- López-Ruiz, J., Rodríguez Rodríguez, C., Carrasco, F.J. 2007. Engorde de oreja de mar, *Haliotis tuberculata* (Linnaeus, 1758), con distintas especies de macroalgas. XI Congreso Nacional de Acuicultura (24-28 de septiembre, 2007, Vigo, España). A. Cerviño *et al.* (eds.): 635-638.
- Morse, A. N. C., Froydand, C. A., Morse, D. E. 1984 Molecules from cyanobacteria and red algae that induce larval settlement and metamorphosis in the mollusc *Haliotis rufescens*. Mar Biol. 81, 3, 293-298
- Morse, D.E., Duncan, H., Hooker, N., Morse, A.N.C., 1977. Hydrogen peroxide induces spawning in mollusks, with activation of prostaglandin endoperoxide synthetase. Science 196, 298-300.
- Morse, D.E., Hooker, N., Duncan, H., Jensen, L., 1979a. -Aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. Science (Wash.) 204, 407-410.
- Morse, D.E., Hooker, N., Jensen, L., Duncan, H., 1979b. Induction of larval abalone settling and metamorphosis by -aminobutyric acid and its congeners from crustose red algae: Presented at: 10. Annu. Meet. World Mariculture Society; Honolulu, HI (USA); 22 Jan 1979. World Mariculture Soc.,
- Neori, A., Shpigel, M., Ben-Ezra, D., 2000. A sustainable integrated system for culture of fish, seaweed and abalone. *Aquaculture*. 186, 279–291.
- Oba, T., 1964. Studies on the propagation of the abalone *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke. II. On the development. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 30, 809.
- Owen, B., DiSalvo, L.H., Ebert, E.E., Fonck, E., 1984. Culture of the Californian Red abalone *Haliotis rufescens* Swainson (1822) in Chile. Veliger 27, 101.
- Peña, J.B., 1984. Egg and larva development of *Haliotis discus* Reeve (Mollusca, Gastropoda, Prosobranchia). Invest. Pesq. (Barc.). 48, 441-454.
- Peña, J.B., 1986. Preliminary study on the induction of artificial spawning in *Haliotis coccinea canariensis* Nordsieck (1975). *Aquaculture* 52, 35-41.
- Roberts, R., 2001. A review of settlement cues for larval abalone (*Haliotis* spp.) J. Shellfish. Res. 20, 2, 571-586.
- Sawatpeera, S., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Chitramvong, Y.P., Sonchaeng, P., Pumthong, T., Nugranad, J., 2001. Larval development in *Haliotis asinina* Linnaeus. Journal of Shellfish Research 20, 593-601.
- Searcy-Bernal, R., Anguiano- Beltrán, C., 1998. Optimizing the Concentration of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) for Inducing Larval Metamorphosis in the Red Abalone *Haliotis rufescens* (Mollusca: Gastropoda) J. World. Aquaculture. Soc. 29, 4, 463–470.
- Searcy-Bernal, R., Salas-Garza, A.E., Flores-Aguilar, R.A., Hinojosa-Rivera, P.R., 1992. Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in the red abalone (*Haliotis rufescens*). *Aquaculture* 105, 241-250.
- Seki, T. 1997. Biological studies on the seed production of the northern Japanese abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Bull. Tohoku Natl. Fish. Res. Inst.* 59:1–71.
- Seki, T., 1980. An advanced biological engineering system for abalone seed production. International Symposium on Coastal Pacific Marine Life. Western Washington University, Bellingham, pp. 45-54.
- Seki, T., K. Taniguchi. 1996. Factors critical to the survival of herbivorous animals during settlement and metamorphosis. In:

- Seki, T., Kan-no, H., 1977. Synchronized Control of Early Life in the Abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, Haliotidae, Gastropoda. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab, 143-153.
- Seki, T., Kan-no, H., 1981. Induced settlement of the Papanese abalone, *Haliotis discus hannai* veliger by the mucus trail of the juvenile and adult abalone. Bull. Tohoku Natl.Fish. Res. Inst. 43, 29-36.
- Shaw, B.L. & Battle, H.I. (1957). The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Can. J. Zool.* **35**: 325-347.
- Shpigel, M., Ragg, N.L., Lupatsch, I., Neori, A., 1999. Protein content determines the nutritional value of the seaweed *Ulva lactuca* L. for the abalone *Haliotis tuberculata* L. and *H. discus hannai* Ino. *J. Shellfish Res.* 18, 227-233.
- Slaterry, M., 1992. Larval settlement and juvenile survival in the red abalone (*Haliotis rufescens*): an examination of inductive cues and substrate selection.
- Sobhon, P., Apisawetakan, S., Chanpoo, M., Wanichanon, C., Linthong, V., Thongkukiatkul, A., Jarayabhand, P., Kruatrachue, M., Upatham, S., Poomthong, T. 1999. Classification of Germ Cells, Reproductive Cycle and Maturation of Gonads in *Haliotis asinina* Linnaeus. *ScienceAsia* 25: 3-21
- Takahashi, K., Koganezawa, A., 1988. Mass culture of *Ulvella lens* as a feed for abalone *Haliotis discus hannai*. NOAA Tech. Rep. NMFS 70, 29-36.
- Takami, H., Kawamura, T., Yamashita, Y., 1997. Survival and growth rates of postlarval abalone *Haliotis discus hannai* fed conspecific trail mucus and/or benthic diatom *Cocconeis scutellum* var. *parva*. *Aquaculture* 152, 129-138.
- Toledo, P., Haroun, R., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Peña, J., 2000. First culture experiences of *Haliotis coccinea canariensis* in a biofilter system. *J. Shellfish Res.* 19, 493-541.
- Viera, M.P., Courtois de Vicose, G.B.R., Fernández-Palacios, H., Roo, J., Valencia, A., 2003. Inducción al desove de la almeja canaria *Haliotis tuberculata coccinea* mediante el método del peróxido de hidrogeno. In: Actas del IX Congreso Nacional de Acuicultura. Junta de Andalucía, Cádiz, pp. 289.
- Viera, M.P., Gómez Pinchetti, J.L., Courtois de Vicose, G., Bilbao, A., Suárez, S., Haroun, R., Izquierdo, M.S., 2005. Suitability of three red macroalgae as a feed for the abalone *Haliotis tuberculata coccinea* Reeve. *Aquaculture* 248, 75-82.
- Y. Watanabee, Y. Yamashita & Y. Oozeki, editors. Survival strategies in early life stages of marine resources. Brookfield: A. A. Balkema. pp. 341-354.