

# Cultivo experimental de larvas de crustáceos y peces en tanques\*

Por

J. M. SAN FELIU, F. MUÑOZ, F. AMAT, J. RAMOS, J. PEÑA y A. SANZ \*\*

## INTRODUCCIÓN

Para aprovechar al máximo los recursos biológicos del mar, el hombre se dedica no sólo a la captura de éstos, mediante los distintos sistemas de pesca, sino también a su cultivo y cría que es el objeto de la Acuicultura.

Esta rama de la Biología, como empresa comercial, se inició con toda seguridad en China donde la practican desde tiempos muy remotos, ya que el primer documento conocido fue escrito en el año 475 antes de J.C.

Si bien la Acuicultura tiene un origen remoto en los países del Extremo Oriente, no lo es menos en Europa y África, ya que la cría de moluscos y peces era conocida siglos antes de la Era Cristiana.

En aquellas remotas épocas e incluso actualmente, en algunos países asiáticos, la mayor parte de las especies objeto de cría se obtienen mediante semicultivos, es decir, capturando ejemplares juveniles en el mar e introduciéndolos posteriormente para su engorde en estanques apropiados, aunque en ocasiones son las mismas corrientes de marea las que, al llenar los estanques, introducen en ellos los estados larvarios de crustáceos y peces. Dada la abundante producción primaria de estos estanques, la alimentación suplementaria añadida y el control de los depredadores y

\* Recibido el 28 de enero de 1976.

\*\* Laboratorio del Grao de Castellón del Instituto de Investigaciones Pesqueras.

competidores, se consigue, en estas zonas, unos resultados adecuados para este tipo de Acuicultura extensiva.

Por lo que respecta a nuestro país, el primer laboratorio dedicado a la Acuicultura propiamente dicha fue construido en el año 1866 en el Real Sitio de San Ildefonso (PARDO, 1951).

En el momento actual la Acuicultura, tanto de aguas dulces como saladas, ha alcanzado un gran desarrollo a escala mundial, apoyándose en los avances científicos. Una muestra de ello la tenemos en el Japón, país que tanto desde el punto de vista de la técnica como del de la productividad, posee la Acuicultura más desarrollada y perfeccionada, cultivándose a escala industrial las algas y realizándose además la cría de diversas especies de moluscos, crustáceos y peces.

En estos últimos años se están llevando a cabo en los EE. UU., Gran Bretaña, Francia, Italia e Israel, por citar algunos países, vastos programas de investigación en el campo de la Acuicultura.

Por lo que respecta a la Acuicultura marina en España, ha sido el Instituto de Investigaciones Pesqueras quien ha iniciado hace años los primeros estudios científicos sobre el tema, trabajando sobre moluscos y crustáceos. En el momento actual esta actividad ha tomado, al igual que en países extranjeros, un gran incremento y los Planes Marisqueros, el Instituto Español de Oceanografía y el Instituto de Investigaciones Pesqueras, están dedicando cuantiosos esfuerzos a este campo de la investigación.

El Laboratorio del Grao de Castellón del Instituto de Investigaciones Pesqueras inició los trabajos de investigación en el campo de la Acuicultura en el año 1965, realizándose los primeros estudios sobre el comportamiento, alimentación y crecimiento del langostino *Penaeus kerathurus* en acuario (SAN FELIU, 1966). Previamente, en el año 1962 y hasta 1965, se habían realizado estudios de la biología de la especie en su hábitat natural (SAN FELIU, 1964). Gracias a los conocimientos adquiridos sobre la especie y la puesta en marcha de unidades de cultivo de fitoplancton y de cría de zooplancton, se pudieron llevar a cabo experiencias de cría del langostino desde el huevo, consiguiéndose los primeros ejemplares adultos a partir de 1968 (SAN FELIU, 1969).

Posteriormente se han iniciado en dicho laboratorio experiencias de cría de otras especies, tales como: camarón (*Palaemon serratus*), lengua-do (*Solea solea*), dorada (*Sparus aurata*) y cangrejo de río (*Austropotamobius pallipes pallipes*).

En este trabajo se especifican las técnicas empleadas en la Planta Piloto de Acuicultura de Castellón para el cultivo del fitoplancton y cría del zooplancton, así como las de puesta inducida y cría de larvas de langostino,

camarón, lenguado y dorada, con una exposición detallada de los resultados obtenidos.

## 1. TÉCNICAS Y SISTEMAS DE CULTIVO DEL PLANCTON

Es sabido el trascendental papel que desempeña el fitoplancton en la vida de los océanos como primer eslabón de la cadena alimentaria marina. Por ello en toda instalación de Acuicultura, donde se pretende reproducir los distintos eslabones de esta cadena, hay que prestar una especial atención a los cultivos de las distintas especies de fitoplancton adecuadas para la cría, tanto de los organismos del zooplancton, como de las larvas de moluscos, crustáceos o peces que se pretendan cultivar.

### 1.1. Fitoplancton

Las cepas originales de las diferentes especies del fitoplancton se han obtenido mediante pescas realizadas en el puerto de Castellón o bien han sido cedidas por otros laboratorios. En el primer caso tenemos las Diatomeas y en el segundo las Crisofíceas y Clorofíceas.

A partir de las pescas de fitoplancton que contienen una mezcla heterogénea de especies, se obtienen cultivos monoespecíficos. Para ello se abona la pesca con los nutrientes del medio de GUILLARD y RYTHER (1962) (cuadro I) y posteriormente se seleccionan las especies que puedan interesar. Los procesos que siguen son:

a) De resistencia, dejando envejecer el cultivo para que desaparezcan así las especies más sensibles a las condiciones ambientales.

b) Mediante el método de pipeteo y lavado de Pringsheim. Este método consiste en separar al binocular con una micropipeta muy fina células o cadenas de células de la especie que se desea obtener pura, lavarla varias veces en medio fresco y finalmente sembrarla en 150 ml de agua de mar filtrada y abonada en un frasco Pyrex de 250 ml. Repitiendo varias veces esta operación se consigue separar una sola especie.

Una vez se ha alcanzado en los frascos de 250 ml el crecimiento exponencial, el cultivo se emplea para sembrar otros frascos esféricos, también de vidrio Pyrex, de 2 l de capacidad, en los que se burbujea aire en su interior a través de una piedra difusora con el fin de evitar la sedimentación del cultivo y aportar CO<sub>2</sub>.

Todos los frascos Pyrex se mantienen en una cámara de cultivos a una temperatura de  $19 \pm 1^\circ \text{C}$ , con iluminación continua mediante una serie de



Foto 1.—Cámara de cultivos de fitoplancton.

tubos fluorescentes que proporcionan una intensidad luminosa de unos 2000 lux (foto 1).

El agua de mar empleada en los cultivos de fitoplancton procede de un pozo de captación con una salinidad de alrededor de 30 ‰. Antes de su utilización se la esteriliza por radiaciones ultravioleta (foto 2). Se abona con los nutrientes del medio «f/2» de GUILLARD y RYTHER (1962) modificado, ya que para las Diatomeas se utiliza silicato a mitad de concentración y para las Crisofíceas y Clorofíceas se sustituye el  $\text{SiO}_3\text{Na}_2$  por  $\text{Cl NH}_4$ .

El agua de mar esterilizada por radiaciones ultravioleta y abonada se filtra posteriormente por membranas de 0,8-0,45  $\mu$  de poro.

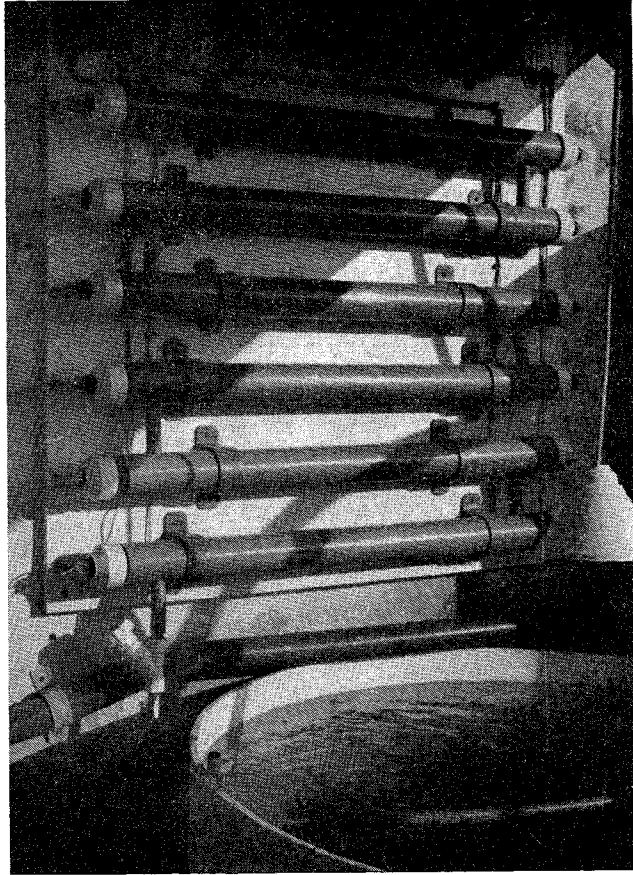


Foto 2. — Esterilizador por radiaciones ultravioleta.

A partir de las cepas mantenidas en la cámara de cultivos se sigue una producción de fitoplancton a media y gran escala.

Los cultivos a media escala se realizan en bolsas de polietileno transparentes de 25 l de capacidad, instaladas en unas estructuras metálicas. Estas estructuras están colocadas a la intemperie para aprovechar al máximo la luz solar, aunque también poseen una serie de tubos fluorescentes que pueden proporcionar iluminación durante la noche o en días nublados. El conjunto dispone de una conducción que distribuye aire a cada una de las bolsas, proporcionando el necesario aporte para la proliferación del alga, al tiempo que origina un intenso burbujeo para mantener el cultivo en suspensión (foto 3).

CUADRO I

Composición del medio «f/2» de GUILLARD y RYTHER (1962)

Na NO <sub>3</sub> . . . . .	75 mg
Na H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O . . . . .	5 mg
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9 H <sub>2</sub> O . . . . .	15-30 mg
Trazas de metales	
Na <sub>2</sub> EDTA . . . . .	4,36 mg
Fe Cl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O . . . . .	3,15 mg
Cu SO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O . . . . .	0,01 mg
Zn SO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O . . . . .	0,022 mg
Co Cl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O . . . . .	0,01 mg
Mn Cl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O . . . . .	0,18 mg
Na MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O . . . . .	0,006 mg
Vitaminas	
Thiamina · HCl . . . . .	0,1 mg
Biotina . . . . .	0,5 µg
B <sub>12</sub> . . . . .	0,5 µg

Agua de mar hasta 1 litro

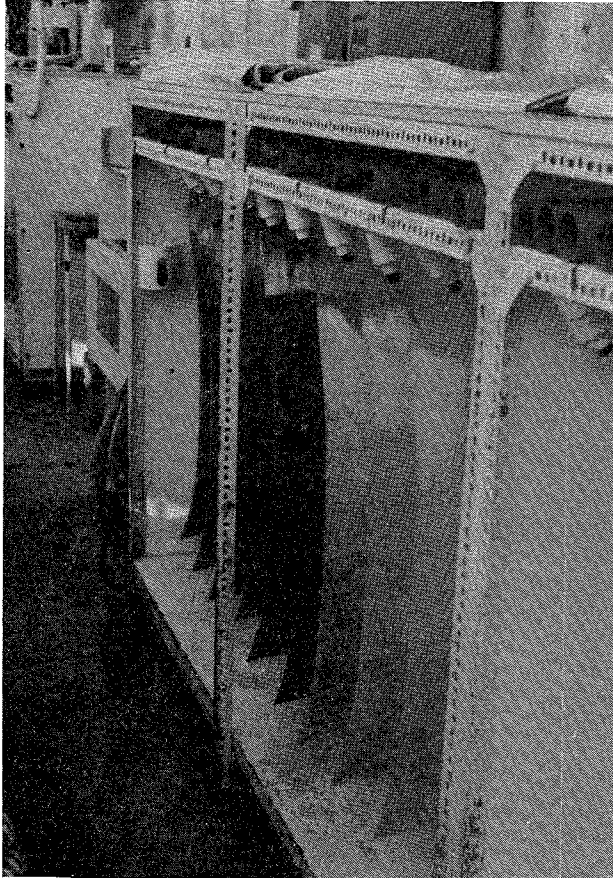


Foto 3. — Cultivos de fitoplancton en bolsas de 25 l.

Las bolsas, al igual que los frascos de cultivo citados anteriormente, se llenan con agua de mar procedente del pozo de captación, de una salinidad de 30 ‰, esterilizada por radiaciones ultravioleta y abonada con los nutrientes indicados. Al cabo de unos 4 días, después de haber sembrado con cultivos unialgales, se obtienen elevadas concentraciones, variables según la especie, y de acuerdo con las cifras que se exponen a continuación:

<i>Tetraselmis</i> sp. . . . .	2-3 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Dunaliella</i> sp. . . . .	1-2 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Chlamydomonas</i> sp. . . . .	3-4 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Monochrysis lutheri</i> . . . . .	6-7 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Isochrysis galbana</i> . . . . .	6-7 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Carteria</i> sp. . . . .	1-2 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> . . . . .	4-5 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Thalassiosira decipiens</i> . . . . .	1-2 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Skeletonema costatum</i> . . . . .	2-3 × 10 <sup>6</sup> cel/ml
<i>Chaetoceros</i> sp. . . . .	3-5 × 10 <sup>5</sup> cel/ml
<i>Asterionella japonica</i> . . . . .	2-3 × 10 <sup>5</sup> cel/ml

También se aplica este método para el cultivo del alga verde de agua dulce *Scenedesmus obliquus*, alcanzándose concentraciones del orden de 10-12 × 10<sup>6</sup> cel/ml. En este caso se usa agua del suministro público, previamente aireada durante 24 horas, para eliminar en lo posible el cloro con que es tratada.

Los cultivos de mayor volumen se mantienen en otro tipo de recipientes construidos con amplias bolsas de polietileno transparente de unos 500-600 l de capacidad. Estas bolsas están sostenidas por una red sujeta a una estructura de tubo de hierro (foto 4). En esta fase se sigue un proceso similar al expuesto anteriormente, aunque la densidad de cel/ml es algo menor.

El cultivo procedente de las bolsas de 25 l de capacidad se emplea tanto para la cría y engorde de organismos del zooplancton, como para inocular las bolsas de 500-600 l de capacidad.

## 1.2. Zooplancton

Las especies mantenidas en la instalación son: el rotífero *Brachionus plicatilis*, el crustáceo branquiópodo *Artemia salina* y el cladócero *Daphnia magna*.

El proceso utilizado para la cría del rotífero *B. plicatilis* (foto 5) es semejante al indicado por SORGELOOS y PERSOONE (1972). A unos recipientes de polietileno blanco y translúcido de 60 l de capacidad, sin fondo y colocados de forma invertida, se les ha incorporado en su interior un di-



Foto 4.— Cultivos de fitoplancton en bolsas de 500 a 600 l.

fusor de aire, así como un sistema de circulación constante del cultivo mediante un tubo de ascenso por burbujeo de aire. Este tubo toma el medio en la parte inferior del recipiente y lo eleva hasta la superficie (foto 6). Gracias a estos dispositivos el medio está permanentemente aireado y en movimiento, evitando, de forma muy efectiva, la sedimentación del cultivo. Los recipientes están dotados además de un calentador-termostato eléctrico que permite mantener temperaturas del orden de 25 a 30° C en pleno invierno.

Con varios recipientes de este tipo se ha instalado una batería que puede proporcionar a diario algo más de 50 l de cultivo de rotíferos a una densidad media de 270 rotíferos/ml.

*A. B. plicatilis* se le viene alimentando generalmente con cultivo algal



monoespecífico de la especie *Tetraselmis* sp., complementándose en diversas ocasiones esta alimentación con otras algas verdes de las citadas anteriormente, con levadura de pan, con extractos de piensos compuestos o con harina de pescado.

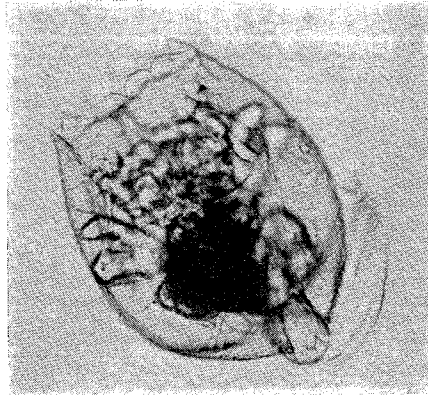


Foto 5.—Ejemplar de *Brachionus plicatilis*.

La *Artemia salina* (foto 7) utilizada procede de San Francisco, California, USA. La eclosión de los huevos císticos se lleva a cabo en recipientes idénticos a los que se cultiva el rotífero *B. plicatilis*. Debido a la gran aireación y movimiento proporcionado al medio, se obtiene porcentajes de eclosión y supervivencia muy aceptables.

Una vez obtenidos los nauplios, se suministran directamente a las larvas de las especies comerciales en cultivo o se les somete a un proceso de engorde.

El crecimiento se sigue en recipientes de fibra de vidrio plastificada, de 150 y 250 l de capacidad, de forma troncocónica y con cuatro entradas de aireación en la parte inferior (foto 8). Carecen de recirculación del medio, efectuándose cambios periódicos introduciendo cultivo algal fresco. Estos cambios se realizan de acuerdo con el número y la talla de los ejemplares sometidos a cría.

Los resultados de producción de *Artemia salina* se consideran adecuados ya que partiendo de 4 g de huevos se consigue, al cabo de 15-20 días, de 0,5 a 1 kg en peso húmedo de ejemplares adultos, según la temperatura de trabajo. Estos resultados se están mejorando al añadir al alimento algal, cuando los individuos se hallan en fase de metanauplio avanzado y juvenil, mezclas equilibradas del alga liofilizada *Spirulina maxima* y harina de pescado.

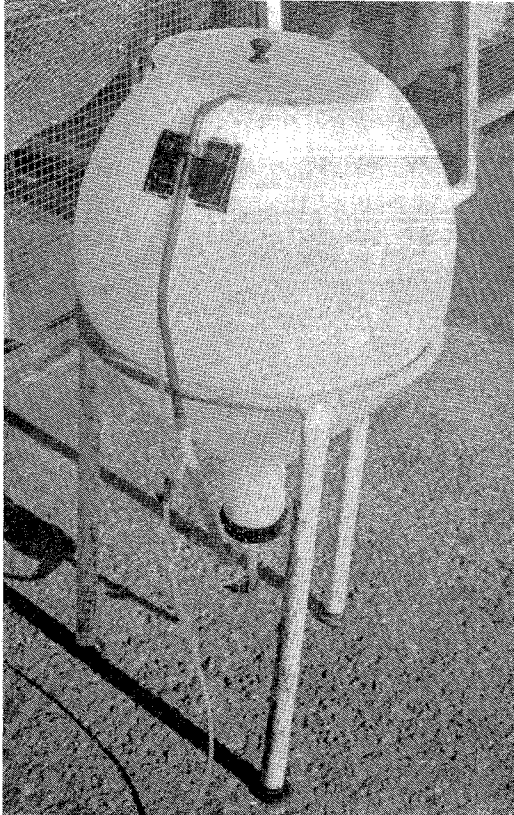


Foto 6.—Recipientes para la cría de *Brachionus plicatilis* y para la eclosión de huevos de *Artemia salina*.



Foto 7.—Metanauplios de *Artemia salina*.

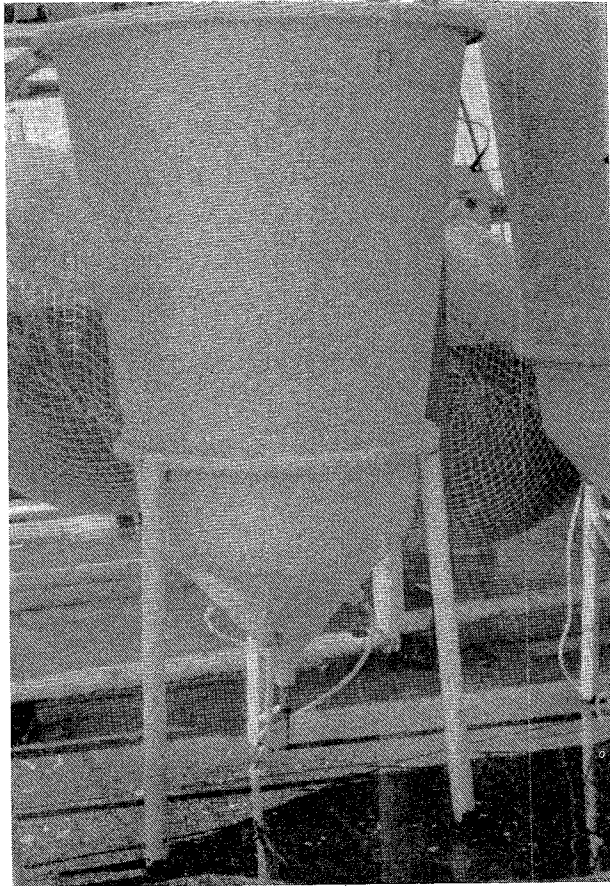


Foto 8.— Recipiente para la cría de *Artemia salina*.

Con el fin de dedicarlo a la alimentación de formas juveniles del cangrejo de río y de los estados larvarios de otros crustáceos y peces marinos, se ha iniciado recientemente el cultivo del cladóceros *Daphnia magna* (foto 9).

Los recipientes empleados hasta el momento son acuarios clásicos de 200 l de capacidad, aunque también se han empleado las grandes bolsas de material plástico de 500-600 l en las que se realiza el cultivo de fitoplancton y que ya se han descrito con anterioridad.

Como alimento de *D. magna* se utiliza el alga de agua dulce *S. obliquus*. Durante el tiempo en que se cría el cladóceros se efectúan sucesivas adiciones del cultivo algal monoespecífico, complementado con dosis escalonadas de harina de pescado.

Los primeros resultados son satisfactorios, ya que, a partir de un inóculo de 35 g de *D. magna* en peso húmedo, se obtienen al cabo de unos 10 días unos 350-400 g en peso húmedo. Con inóculos mayores, 100-150 g, se alcanza al cabo de una semana una producción de unos 600-650 g.

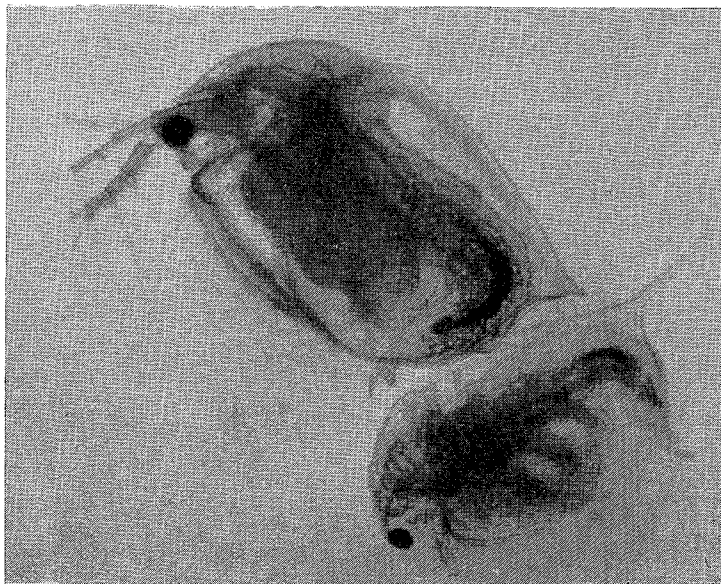


Foto 9.—Ejemplares de *Daphnia magna*.

## 2. CRÍA DEL LANGOSTINO

*Penaeus kerathurus* (Forskäl, 1775)

### 2.1. Captura, transporte y mantenimiento de reproductores

Es sabido que, para la obtención de huevos viables del langostino *Penaeus kerathurus*, es suficiente la utilización de hembras con las gónadas maduras y que se encuentren fecundadas, ya que el esperma que en su día les proporcionó el macho y que utilizan en el momento de la puesta para la fecundación de los óvulos, lo mantienen en el «thelicum» durante todo el período de tiempo comprendido entre dos mudas.

En la época de puesta de la especie que se extiende desde finales de mayo a primeros de septiembre (SAN FELIU, 1964) los reproductores se concentran en fondos comprendidos entre 5 y 25 m y dado que en nuestra zona la veda costera prohíbe la pesca de arrastre en fondos inferiores a

50 m, solamente se pueden capturar dichos reproductores con artes de trasmallo.

El arte de trasmallo es muy efectivo para la pesca del langostino cuando se utiliza durante la noche, pues es entonces cuando esta especie muestra actividad, emergiendo del fondo en el que ha permanecido enterrada durante las horas de luz. Los profesionales de la pesca dejan en el mar este arte durante toda la noche o solamente las horas del amanecer. Para conseguir langostinos en buenas condiciones vitales, aprovechamos siempre aquellas capturas que se han obtenido al amanecer, ya que los ejemplares han pasado menos horas sujetos al arte de arrastre.

Si la separación del langostino de las mallas del trasmallo se efectúa con cuidado, es muy raro que los ejemplares sufran lesiones. No obstante, es posible que alguno de ellos, aunque en un tanto por ciento muy bajo, tenga roto el ovario en los últimos segmentos del abdomen.

Una vez que los pescadores han separado los langostinos del trasmallo, escogen los ejemplares que están fecundados y los depositan en un recipiente rectangular de material plástico, lleno de agua, con arena fina en el fondo y de unos 80 l de capacidad. Durante el transporte desde la zona de captura hasta el puerto que tiene una duración máxima de dos horas, renuevan el agua periódicamente. En el puerto se seleccionan de la captura aquellas hembras que muestran mayor vitalidad y tienen el ovario más maduro.

En escasas ocasiones se han utilizado hembras de langostino procedentes de pescas de arrastre, ya que a pesar de tomar la precaución de que dichas pescas tengan una duración máxima de 45 minutos, un tanto por ciento de langostinos, más elevado que en el caso del trasmallo, aparecen muertos o mueren posteriormente, sobre todo aquellas hembras con las gónadas más maduras. Este hecho es lógico si pensamos en los traumas que puede sufrir el langostino durante el arrastre y en el momento de izar el arte de pesca a bordo de la embarcación.

Para el transporte desde el puerto al laboratorio se viene utilizando, con pleno éxito, garrafones cilíndricos de material plástico de 25 a 50 l de capacidad, en los que se coloca un fondo de arena, agua de mar y se burbujea aire durante el transporte. Este aire lo proporciona un pequeño compresor alimentado por la corriente eléctrica de la batería del vehículo a través de un transformador. Se ha llegado a transportar una hembra adulta de langostino por cada dos litros de agua, sin ninguna mortalidad.

Dado que en las zonas marítimas próximas al Laboratorio existen poblaciones naturales de langostino, los transportes de los ejemplares desde los distintos puertos al Laboratorio tienen escasa duración, con un máximo

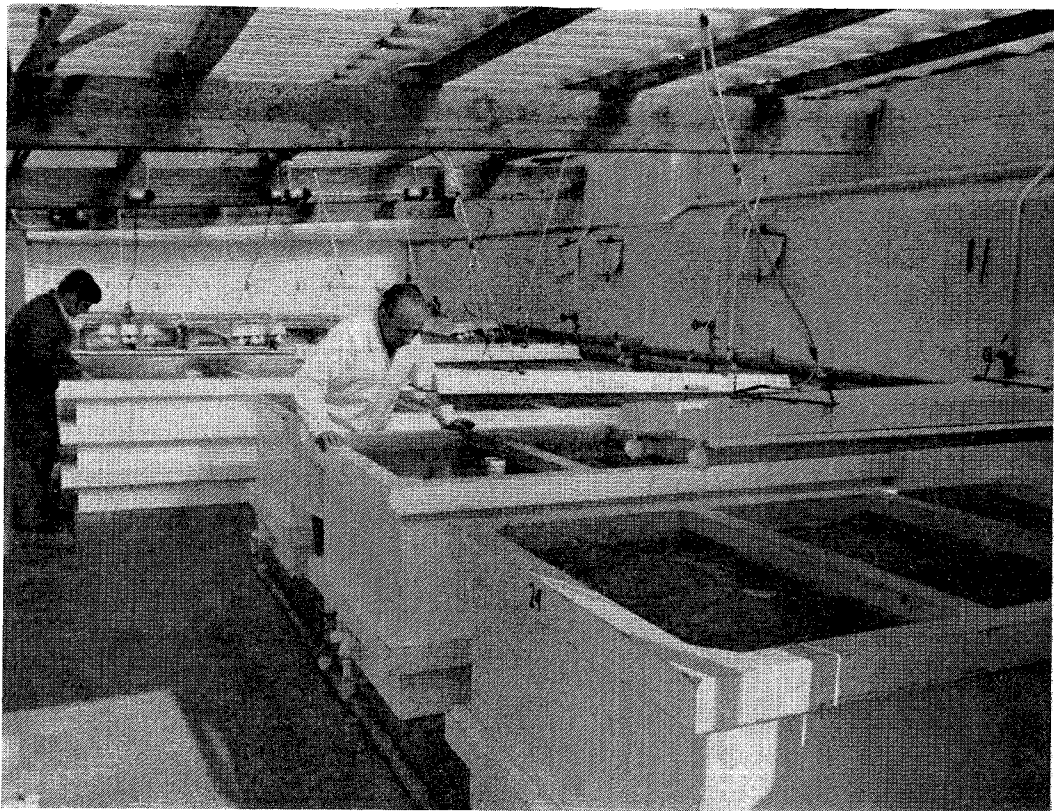


Foto 10. — Vista parcial de las instalaciones de cría.

de 90 minutos. Tomando las precauciones indicadas anteriormente, la supervivencia ha sido total en todos los transportes.

También se ha realizado un transporte mediante coche y avión con una duración total de unas 10 horas. Los langostinos se mantuvieron en bolsas de plástico herméticamente cerradas, conteniendo agua de mar hasta su mitad (unos 15 l) con un fondo de arena silíceá lavada y el resto de la bolsa lleno de oxígeno. Estas bolsas se introducían en cajas de cartón con planchas de poliuretano como aislante. Tampoco en este caso hubo mortalidad.

Una vez que las hembras de langostino han llegado al laboratorio, se les coloca en acuarios de cemento, de forma rectangular, recubiertos internamente de azulejo vidriado, situados en una instalación cubierta, o bien en acuarios construidos en contrachapado marino y plastificados internamente. Ambos tipos de acuarios están dotados del sistema de doble fondo,

con una capa de arena silíceas de unos 5 cm de espesor sobre el falso fondo, tienen una capacidad de unos 2000 l y el fondo real en tres planos inclinados para facilitar el desagüe (foto 10).

Los acuarios, limpios y desinfectados, se llenan con agua de mar un día antes de la introducción de las hembras de langostino en los mismos. Este agua procede del puerto de Castellón y se encuentra bastante contaminada, por lo que se esteriliza por radiaciones ultravioleta, se filtra por lechos de arena, carbón activo y filtros Cuno de 10 y 3  $\mu$ . Se le añade la cantidad de agua dulce necesaria para rebajar su salinidad a  $34 \pm 1$  ‰ y se calienta hasta  $28 \pm 1$  ° C, manteniendo esta temperatura durante todo el proceso de puesta y cría de larvas. El agua permanece en continua aireación-agitación mediante una serie de difusores distribuidos uniformemente por el fondo del acuario, los cuales proporcionan un total de unos 20 l de aire por minuto.

## 2.2. Técnicas de puesta inducida

El número de hembras de langostino con las gónadas maduras que se colocan en cada acuario de 2 m<sup>3</sup> varía de 10 a 20, según disponibilidades.

La madurez del ovario se aprecia por transparencia a través del caparazón y también doblando el ejemplar por el cefalotórax y abdomen. El ovario maduro es de un color amarillo-anaranjado intenso, aunque en algunos ejemplares muestra una coloración verde oliva, ancho y sus lóbulos se extienden mucho en el cefalotórax y en la parte anterior del primer segmento abdominal.

En la primera y segunda noche de estancia de las hembras en los acuarios, bajo total oscuridad, algunas de ellas realizan la puesta vaciando total o parcialmente el ovario mientras nadan moviendo activamente los pleópodos. Las puestas suceden en las primeras horas de la noche, aunque también se han observado algunas en la madrugada (SAN FELIU, 1969).

Según lo indicado anteriormente, se comprende que las técnicas empleadas para la inducción de puesta en las hembras de langostino son sencillas, ya que solamente se emplea un shock térmico que es suficiente para que éstas emitan los óvulos y los fecunden.

Durante los días que permanecen las hembras de langostino en los acuarios, no se realiza ningún intercambio de agua ni se añade ningún tipo de alimento.

Las condiciones físico-químicas del agua de los acuarios en los momentos en que se han obtenido las puestas a lo largo de los últimos años han sido: salinidad comprendida entre 33 y 38 ‰, temperaturas de 26 a

29° C, contenido de oxígeno superior al 90 %, pH comprendido entre 7,8 y 8,3 y bajos valores de  $\text{NO}_2^-$ .

### 2.3. Incubación de los huevos

Las hembras de langostino se sacan de los acuarios de puesta en la mañana del tercer día de estancia en los mismos, procurando no remover la arena del fondo.

Los huevos, una vez puestos por las hembras, permanecen de 1 a 2 horas en suspensión en el agua, sedimentando después en el fondo del acuario a pesar de la intensa aireación-agitación del agua.

El huevo muestra una zona clara que rodea una masa central más oscura y en esta masa se inicia rápidamente la división celular. Al cabo de unas 10 horas después de la puesta, el diámetro medio de los huevos medidos es de 0,30 mm (foto 11).

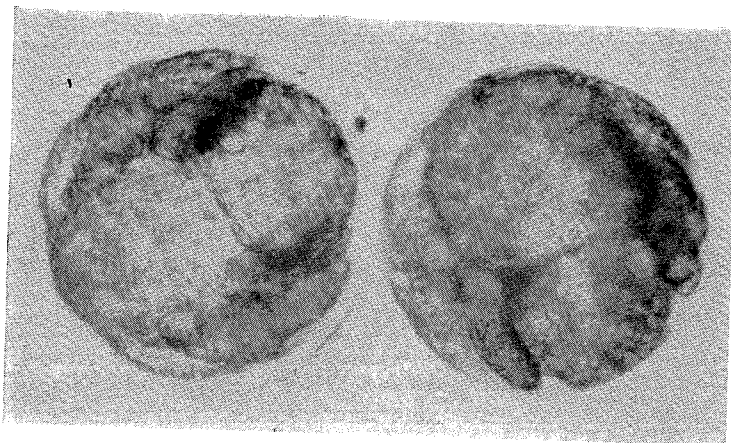


Foto 11. — Huevos de *Penaeus kerathurus*, momentos antes de la eclosión.

A una temperatura del agua de 28-29° C, la eclosión del huevo tiene lugar unas 14-15 horas después de la puesta.

Los huevos se han incubado pues, en el mismo acuario en que las hembras han realizado la puesta, sin otras precauciones que las indicadas con anterioridad, es decir: depuración del agua del mar, calefacción de la misma y aireación-agitación.



## 2.4. Cría de larvas

### 2.4.1. Aspectos físicos

Los acuarios utilizados últimamente para la cría de las larvas son los mismos en los que se han mantenido las hembras, en los que se ha obtenido la puesta, la incubación y la eclosión de los huevos.

Sus dimensiones y volúmenes varían, pero por término medio tiene  $2,00 \times 1,80 \times 0,60$  y un volumen de agua de unos  $2 \text{ m}^3$ . Están dotados del sistema de doble fondo y lechos de arena, lo que nos permite vaciar el agua del acuario sin perder por ello las larvas o su alimento (SAN FELIU, 1974).

El agua de mar utilizada en la cría de los primeros estados larvarios de *Penaeus kerathurus* sigue siendo la misma en la que los huevos han realizado la eclosión.

Para poder cultivar en estos acuarios el fitoplancton que servirá de alimento a las larvas, se ha dispuesto sobre cada uno de ellos un conjunto de tubos fluorescentes de 40 y 65 W de Sylvania Gro-lux y Metal Mazda Fluor los cuales proporcionan una intensidad lumínica de unos 4000 lux.

Dadas las características de la instalación y los métodos de cría y cultivo empleados, la concentración de larvas por unidad de volumen varía de acuerdo con el estado de las larvas. La tasa inicial a nivel de larva nauplio es de 75 a 100 larvas/l, mientras que en el estado P 1 o primer estado post-larvario es de 35-40 larvas/l, debido a la mortalidad habida durante el desarrollo.

### 2.4.2. Nutrición de las larvas

Los alimentos empleados en la cría de larvas del langostino han sido, hasta el momento, alimentos naturales vivos. Las experiencias de alimentación de larvas con nutrición artificial están en curso y los resultados todavía no son concluyentes.

En el momento en que aparecen en los acuarios los primeros nauplios de langostino (foto 12) hecho que sucede alrededor de las 11.00 h de la mañana se abona el agua del acuario con el medio de GUILLARD y RYTHER (1962) citado anteriormente.

En los cuadros II y III se exponen, como ejemplo, los resultados de dos de las experiencias que desde hace años se vienen realizando en el laboratorio. Además de los datos físico-químicos del agua, se tabulan también la naturaleza, la densidad y la frecuencia de los alimentos utilizados.

CUADRO II

Características físico-químicas del agua y otros datos de una experiencia de puesta y cría de larvas de *Penaeus kerathurus* en un acuario de 2200 l de capacidad y 3,47 m<sup>2</sup> de superficie

Fecha	Temp. °C	pH	Salin. ‰	O <sub>2</sub> ‰	PO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	SiO <sub>2</sub>	N.º cél.	N.º larv.	OBSERVACIONES
20-6-74	29,5	7,9	33,3	98	—	0,30	—	13,5	—	—	—	Entran 18 hembras. Puesta en la noche. A las 10.45 nauplio I. Se sacan hembras. Abono y siembra con <i>Skeletonema costatum</i> .
21-6-74	28,6	7,9	33,2	95	—	0,57	—	35,4	—	—	164	
22-6-74	28,4	8,0	33,0	96	5,3	2,14	110,7	20,7	16,5	60	—	Larvas nauplio.
23-6-74	26,9	8,1	33,0	98	5,0	4,32	103,4	11,1	16,5	250	160	Larvas Zoea I. Entran 400 l. <i>S. costatum</i> y <i>Chaetoceros</i> sp.
24-6-74	28,1	8,3	32,9	100	4,9	6,24	98,6	4,1	16,5	420	156	Larvas Zoea I y II. Entran 900 l. <i>Skel.</i>
25-6-74	26,7	8,3	32,1	97	4,8	18,38	84,4	1,9	16,5	400	—	Entran 700 l. <i>S. costatum</i> y <i>T. decipiens</i> . 50 l. <i>B. plicatilis</i> a 220/ml.
26-6-74	28,2	8,4	31,7	95	3,7	19,94	66,3	1,4	16,6	500	160	Zoea II y III. Entran 550 l. <i>Skel.</i> y <i>Chaet.</i> 50 l. <i>B. plicatilis</i> a 210/ml.
27-6-74	28,5	8,3	31,4	95	4,7	23,57	40,5	2,1	18,7	570	—	Entran 900 l. <i>Skel.</i> , <i>Chaet.</i> y 50 l. <i>B. plic.</i> a 240/l. Nauplius <i>Artemia salina</i> .
28-6-74	27,5	8,3	31,1	93	3,4	25,95	64,7	10,7	16,8	440	—	Entran 1500 l. Diatomeas y 50 l. <i>B. plicatil.</i> a 310 ml. Abono. Nauplius <i>A. salina</i> . Zoea III y Mysis I.
29-6-74	27,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Se intercambian 800 l agua. Entran 1200 l. Diatomeas. Abono. <i>B. plicatil.</i> a 185/ml y nauplios <i>A. salina</i> . Zooplancton Puerto.
30-6-74	28,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Se intercambian 1200 l agua. Entran 800 l. Diatomeas. 50 l. <i>Brach.</i> a 405/ml. Nauplios <i>A. salina</i> y Zoo Puerto. Abono.
1-7-74	28,3	8,2	31,2	95	6,3	21,76	71,1	42,5	21,6	530	124	Intercambio 1200 l. Diatomeas. 50 l. <i>Brachio.</i> a 190 ml. Abono. Entra <i>A. salina</i> de 1 y 5 días. Mysis II y III. Zoo Puerto.
2-7-74	27,7	8,3	31,2	96	5,8	26,48	87,8	35,6	23,5	400	—	Intercambio 2000 l. agua con Diatomeas. <i>Brach.</i> 50 l. a 285/ml. Abono. Nauplios <i>A. salina</i> de 1 y 5 días. Zooplancton Puerto.
3-7-74	27,2	8,3	33,7	97	5,5	47,29	64,2	53,8	21,8	200	—	Intercambio 1500 l. agua con Diatomeas. <i>Brach.</i> 50 l. a 320/ml. Abono. <i>A. salina</i> meta-nauplio y juvenil. Mysis III y P 1.
4-7-74	27,4	8,2	34,2	99	3,1	27,57	50,8	45,5	12,3	530	92	Intercambio 2000 l. agua con Diat. <i>Brach.</i> 50 l. a 230/ml. <i>Arte.</i> juvenil y Zoo. Larv. P. 1.

PO<sub>4</sub><sup>=</sup> en mg/l; NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en µg at. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>—N/2; NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en mg/l; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en µg at. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/l; SiO<sub>2</sub> en mg/l; N.º cél./ml × 10<sup>3</sup>; N.º larvas × 10<sup>3</sup>.

CUADRO III

Características físico-químicas del agua y otros datos de una experiencia de puesta y cría de larvas de *Penaeus kerathurus* en un acuario de 1200 l de capacidad y 2,44 m<sup>2</sup> de superficie

Fecha	Temp. °C	pH	Salin. ‰	O <sub>2</sub> %	PO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	SiO <sub>2</sub>	N. <sup>o</sup> cél.	N. <sup>o</sup> larv.	OBSERVACIONES
12-2-74	26,6	7,8	34,1	98	—	0,08	—	6,6	—	—	—	Entran 10 hembras. 12 g. EDTA. Puesta. Nauplios. Abono. Siembra <i>Skeletonema</i> . 24 horas luz. Salen hembras.
13-7-74	25,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
14-7-74	28,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Nauplios. Se inicia proliferación cultivo.
15-7-74	27,2	8,1	34,5	97	4,7	2,32	43,4	15,3	12,6	200	140	Larvas en Zoea I. Se añaden 200 l. <i>Skel.</i>
16-7-74	28,2	8,2	33,8	99	3,8	5,62	47,6	5,4	12,1	550	140	Zoea I y II. Se intercambian 500 l. cultivos Diatomeas. Entran <i>Brachionus</i> . Abono.
17-7-74	27,3	8,3	32,6	95	5,0	32,32	—	12,6	15,2	200	138	Zoea III. Se intercambia 600 l. Diatomeas <i>Brachionus</i> a 17.000/l.
18-7-74	27,7	—	—	—	—	—	—	—	—	220	136	Zoea II y III. Se intercambia 750 l. Diatomeas. <i>Brachionus</i> a 3000/l.
19-7-74	27,8	8,2	30,9	97	4,3	39,78	52,8	21,7	17,9	150	121	Se intercambia 800 l. Diatomeas. <i>Brachionus</i> a 8333/l. Nauplios <i>Artemia</i> a 1333/l.
20-7-74	27,2	—	—	—	—	—	—	—	—	380	109	Se intercambia 900 l. Diatom. <i>Brachionus</i> a 5666/l. <i>Artemia</i> a 1533/l. Mysis I y II. Zoo.
21-7-74	27,7	—	—	—	—	—	—	—	—	150	97	Se intercambia agua y Diatomeas. <i>Brachionus</i> a 11.000/l. <i>Artemia</i> a 2000/l. Zoo.
22-7-74	27,8	8,1	32,3	93	4,9	35,27	20,5	133,3	14,0	180	96	Se intercambia 800 l. agua y Diat. <i>Brachio.</i> a 9533/l. <i>Artemia</i> 1800. Zooplancton.
23-7-74	28,2	8,1	33,1	92	2,4	41,89	7,2	79,4	13,1	470	96	Se intercambia 1000 l. agua y Diatomeas. <i>Brachionus</i> a 9333/l. <i>Artemia</i> nauplio y juvenil. Mysis II y III. Zooplancton.
24-7-74	28,0	8,2	32,3	87	1,9	45,40	7,0	91,9	13,5	300	91	Se intercambia 1000 l. entre agua y Diat. <i>Brach.</i> a 10.300/l. <i>Artem.</i> nauplio y Juv. Zoo.
25-7-74	27,7	—	—	—	—	—	—	—	—	280	90	Se intercambia 1000 l. entre agua y Diat. <i>Brachion.</i> 7000/l. <i>Art.</i> nauplio y juv. Zoo.
26-7-74	27,3	8,1	35,5	88	3,0	11,90	—	146,8	7,5	—	78	Intercambio de agua y Diatomeas. Larvas P 1. Zooplancton.

PO<sub>4</sub><sup>=</sup> en mg/l; NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en µg at. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/l; NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en mg/l; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en µg at. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/l; SiO<sub>2</sub> en mg/l; N.<sup>o</sup> cél/ml × 10<sup>3</sup>; N.<sup>o</sup> larvas × 10<sup>3</sup>.

Como puede apreciarse en dichos cuadros, una vez se ha enriquecido con nutrientes el agua de los acuarios, se procede a sembrar ésta con cultivos pluriespecíficos de Diatomeas, especialmente *Skeletonema costatum* y *Thalassiosira decipiens*, manteniendo a partir de este momento una iluminación y aireación-agitación constantes. De esta forma, al llegar las

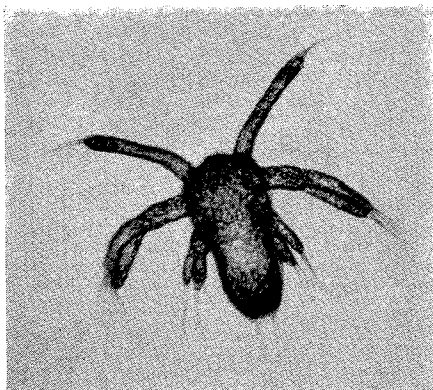


Foto 12.— Nauplio I de *Penaeus kerathurus*.

larvas a la fase zoea, aproximadamente dos días después de la eclosión según la temperatura del agua, el fitoplancton sembrado se encuentra en fase de crecimiento exponencial y las larvas tienen a su disposición un elevado número de células que les sirven de alimento.

A partir del tercer o cuarto día después de la eclosión y según el estado del cultivo de fitoplancton, se realizan intercambios diarios del medio añadiendo además, si es que son necesarios, los nutrientes minerales. Durante toda la fase zoea y primer estado mysis, dichos intercambios se realizan únicamente con densos cultivos de Diatomeas. Después de la primera mysis se añade, además de cultivos de Diatomeas, agua filtrada y esterilizada hasta renovar, al menos una vez por día, el volumen total del agua del acuario.

Mediante estos intercambios se consigue mantener un elevado número de células de fitoplancton en el medio, ya que dada la elevada concentración de larvas/l, el alimento consumido por éstas es superior a la tasa de producción y sedimentación del cultivo, consiguiendo al mismo tiempo una disminución de la concentración de los metabolitos.

Cuando la larva zoea llega al estado III (foto 13) además del fitoplancton se empieza a añadir al medio pequeños elementos del zooplancton, tales como: *Brachionus plicatilis*, nauplios recién nacidos de *Artemia salina*,

*Daphnia magna* recién nacida, copepoditos, larvas de cirrípedos, de lame-libranquios, etc.

Tanto los *B. plicatilis* como *A. salina* y *D. magna* se crían, como ya hemos visto, en las instalaciones del Laboratorio, pero los otros elementos del zooplancton proceden de las aguas del puerto de Castellón. Para su

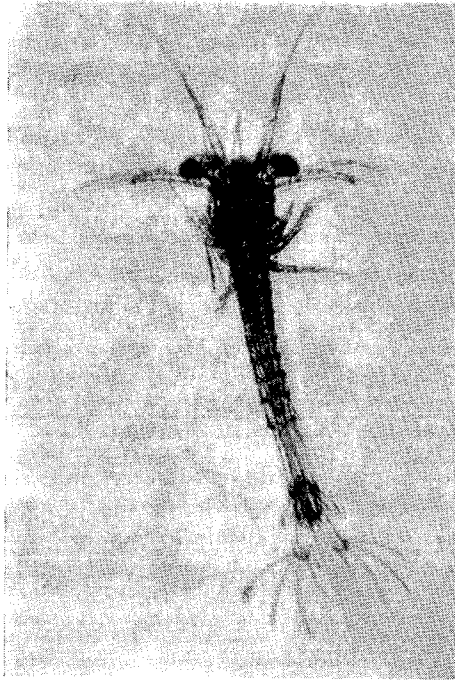


Foto 13.— Larva zoea III de *Penaeus kerathurus*.

captura se ha dispuesto en el mismo Puerto y cerca de las instalaciones de cría, una luz submarina junto al lugar en que una bomba aspira e impulsa el agua de mar hasta las instalaciones. Durante las horas nocturnas se enciende la luz submarina y los organismos fototrópicos del plancton, atraídos por dicha luz, son succionados por la bomba en unión del agua. Cuando ésta llega a la instalación se filtra por redes de plancton de distinta luz de malla, reteniendo así en cada red, los distintos organismos del zooplancton según tallas.

Siguiendo esta pauta, al cabo de 14-15 días después de la eclosión, a temperaturas de 27-29° C, las larvas han alcanzado el estado post-larvario y pronto inician su vida bentónica. Devoran los organismos que habían en-

trado con el zooplancton proporcionado y que pueblan el fondo del acuario. A partir de este momento se inicia una alimentación a base de carne troceada de moluscos lamelibranquios (*Mytilus edulis*, *Venus gallina*), cangrejo (*Macropipus depurator*) y *Artemia salina* adulta. Se aumenta el intercambio de agua hasta 3 o 4 veces el volumen total del acuario por día.

Todos los intercambios de agua se han realizado sin pérdida de las larvas ni de los elementos del zooplancton que les sirven de alimento, gracias al sistema de doble fondo con capas de arena del que están dotados todos los acuarios.

Como se puede apreciar en los cuadros II y III se controla diariamente, tanto el número de células del fitoplancton por ml, como el número de *B. plicatilis* y nauplios de *Artemia salina* por litro, añadiendo la cantidad necesaria de los mismos para mantener la concentración adecuada por larva ya que, se ha comprobado, que la actividad de captura de presas vivas por larva no es constante, sino directamente proporcional a la concentración de presas por larva, al menos dentro de los márgenes en que se ha experimentado, a saber: de 2 a 6 *B. plicatilis*/ml.; de 0,6 a 2 nauplios *Artemia*/ml. y 0,3 a 1 *Daphnia* recién nacida/ml.

En las concentraciones máximas de alimento citadas se ha llegado a contabilizar, durante 24 horas, consumos de hasta 78 *B. plicatilis* o 16 nauplios de *Artemia salina* o 13 *Daphnia magna* recién nacidas por larva de langostino en estado mysis II. Se han detectado consumos semejantes en las larvas en estado mysis III. Sin embargo, en P-1 el consumo por larva ha llegado a ser de 64 *B. plicatilis* o 34 nauplios de *A. salina* o 15 de *D. magna* recién nacidas.

#### 2.4.3. Supervivencia larvaria

Las experiencias de cría de langostino se iniciaron en este Laboratorio hace aproximadamente unos nueve años. Lógicamente las supervivencias larvarias de los primeros años fueron muy bajas, pero con las mejoras introducidas a lo largo de este período, se ha logrado en estos últimos años alcanzar, en varias ocasiones, supervivencias hasta del 77 % desde el primer nauplio (N 1) a la primera post-larva (P 1) (SAN FELIU, MUÑOZ y ALCARAZ, 1973).

Estas supervivencias han sido posibles siempre que se ha logrado mantener en adecuadas condiciones los cultivos de fitoplancton en los acuarios de cría de larvas, también cuando la densidad del zooplancton ha sido la necesaria para el consumo de las larvas según sus diversos estados y mien-

tras se ha podido mantener un pH alcalino, unos valores de oxígeno próximos a la saturación y unos bajos valores de amoníaco y de nitritos.

Cuando esta serie de factores no han sido los adecuados, se han producido elevadas mortalidades larvarias, encontrándose parásitos, como por ejemplo vorticélicos, sobre todo a partir de la primera larva mysis; grupos de materia orgánica en las branquias y sedas e incluso aparición de gran número de protozoos y la sustitución en el medio de las Diatomeas por las Clorofíceas. Hasta el momento la única solución encontrada ha sido la de retirar las larvas supervivientes, proceder a una esmerada desinfección del acuario e iniciar en el mismo una nueva puesta y cría de larvas.

### 3. CRÍA DEL CAMARÓN

*Palaemon serratus* (Pennant, 1777)

En el año 1972 se iniciaron en este Laboratorio las experiencias de cría de camarón, especie que al tener una época de puesta distinta a la del langostino permitía utilizar, a lo largo de todo el año, los acuarios de cría y puesta de larvas.

#### 3.1. Captura, transporte y mantenimiento de los reproductores

Debido a que en las instalaciones se ha cerrado el ciclo vital de la especie desde hace tiempo y al año de vida los ejemplares nacidos en la instalación han desarrollado sus gónadas, se dispone de hembras con huevos a partir de los meses de diciembre-enero. No obstante y dado que por la talla de estos camarones, el número de huevos por hembra es inferior al de los grandes ejemplares de la población natural, se sigue también capturando y empleando éstos en las experiencias de cría.

Para FORSTER (1951) el número de huevos por hembra, según tallas, varía de acuerdo con las cifras consignadas en el cuadro IV.

CUADRO IV

Long. cm	N.º huevos	Long. cm	N.º huevos
6,2 . . . . .	1523	9,3 . . . . .	3887
6,8 . . . . .	2106	9,6 . . . . .	3150
7,0 . . . . .	1628	10,4 . . . . .	3859
7,1 . . . . .	1989	10,5 . . . . .	4282

Dado que en esta zona no existe una explotación industrial del camarón, los ejemplares de esta especie se vienen capturando por el personal del laboratorio mediante gamberos. El gambero es un pequeño arte de pesca parecido al retel, que está formado por un aro de hierro al que se sujeta una red de malla estrecha en forma de bolsa. En el centro del aro se coloca el cebo constituido generalmente por sardina salada. Este arte de pesca se sitúa en los agujeros que forman las rocas de la escollera del puerto de Castellón o bien sobre el fondo del Puerto, en las inmediaciones de las escolleras.

Los gamberos se calan al atardecer en los lugares de captura indicados y se revisan cada 10-15 minutos con el fin de retirar los ejemplares capturados o sustituir el cebo. El gambero se debe izar lentamente para evitar que los camarones salgan fuera del mismo.

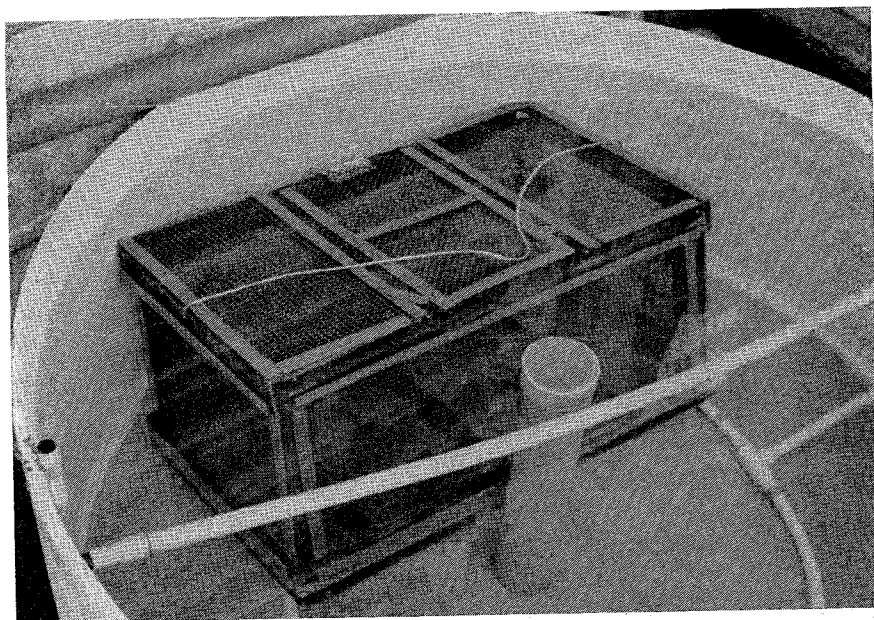


Foto 14. — Jaula destinada al mantenimiento de hembras ovígenas de *Palaemon serratus*.

Debido a la proximidad del punto de captura al Laboratorio, unos 500 m a lo sumo, el traslado de las hembras de camarón se realiza simplemente en un pequeño recipiente de material plástico lleno de agua.

Una vez en el Laboratorio, se colocan las hembras con huevos en una estructura de madera en forma de paralelepípedo rectangular, recubierta de red de material plástico y cuyo tamaño de malla no permite la salida de



los ejemplares adultos pero sí de las larvas. Esta especie de jaula está colocada en el mismo tipo de acuario que hemos descrito al hablar de las experiencias de puesta y cría de larvas del langostino. También se ha empleado para estos fines acuarios cilíndricos de 600 l de capacidad, dotados del sistema de doble fondo con capas de arena sobre el falso fondo, aireación-agitación y termostatos eléctricos para el caldeoamiento del agua (foto 14).

Manteniendo las hembras de camarón en la citada jaula, se consigue un fácil control de las mismas, pudiendo retirar diariamente aquellos ejemplares cuyos huevos han hecho eclosión, así como el alimento sobrante.

Para el mantenimiento de estos camarones se utiliza el agua del puerto de Castellón filtrada por tela de plancton de  $63 \mu$  o la que se obtiene de un pozo de captación de agua. En el primer caso las experiencias se realizan en una instalación interior, mientras que en el segundo, iniciadas en 1974, los acuarios están situados en otra instalación que está protegida únicamente por un techo de material plástico transparente. Para acelerar el desarrollo de los huevos se aumenta la temperatura del agua hasta unos  $20-22^{\circ} \text{C}$  ya que la duración del período de incubación está relacionado directamente con la temperatura del agua, tal como puede apreciarse en el cuadro V tomado de PHILLIPS (1971).

CUADRO V

**Duración de la incubación de huevo en *Palaemon serratus* según la temperatura**

<i>Temperatura en °C</i>	<i>Incubación en días</i>	<i>Autor</i>
12	102	Phillips *
15	58	Reeve **
15	55	Phillips *
18	39	Phillips *
20	28	Reeve **
21	21	Phillips *

\* Aparición de la primera larva.

\*\* Eclosión del 50 % de huevos.

Los acuarios cilíndricos, anteriormente citados, en los que se mantienen las hembras con huevos, funcionan en circuito abierto, intercambiándose 2 a 3 veces el volumen total de agua del acuario por día. Este agua que procede de un pozo de captación, llega a los acuarios, en pleno invierno, a  $18-19^{\circ} \text{C}$  sin caldeoamiento previo.

Las hembras de camarón se mantienen en los acuarios hasta el momento de la eclosión de los huevos, proporcionándoles diariamente alimento fresco a base de mejillón (*Mytilus edulis*) y cangrejo (*Macropipus depurator*) retirando cada mañana de la jaula el alimento sobrante.

Con el fin de evitar el canibalismo entre las larvas y conseguir una población lo más homogénea posible, es conveniente procurar una eclosión abundante de huevos en pocos días. Para ello existe la posibilidad de partir de un gran lote de hembras ovígeras y por consiguiente obtener un gran número de larvas en muy pocos días, o bien separar las hembras en lotes, según el desarrollo alcanzado por sus huevos y sometiéndolas a distintas temperaturas, homogeneizar el desarrollo de los mismos. Este último método es el ideal pero no ha sido posible utilizarlo en la actual instalación. Los trabajos se han realizado siempre partiendo de un lote de hembras lo más numeroso posible. Los huevos que están cercanos a la eclosión se reconocen por los movimientos rítmicos del embrión y por el desarrollo alcanzado por sus ojos. La eclosión, en todas las ocasiones observadas, ha tenido lugar durante la noche.

En las primeras experiencias se mantenían las hembras cuyos huevos todavía no habían realizado eclosión, en el mismo acuario en el que ya existían larvas procedentes de eclosiones anteriores, pero dado que se pudo comprobar que las hembras consumían las larvas, en la actualidad se separan éstas lo más pronto posible de aquéllas. Para ello se puede utilizar el fototropismo positivo de las larvas y una vez acumuladas en una pequeña zona, succionarlas por sifón, filtrando en la salida sobre un recipiente, sumergido parcialmente en agua y cuyo fondo está formado por una tela de nylon de tamaño de malla adecuado.

El número de larvas producido por hembra es inferior al número de huevos transportados en principio por ésta. Parte de ellos se pierden durante el desarrollo embrionario, pero además, después de la eclosión, siempre queda en la parte inferior del abdomen de la hembra una mayor o menor cantidad de huevos que no han hecho eclosión y que se pierden con la próxima muda.

La primera eclosión de huevos, obtenida en nuestras instalaciones, tuvo lugar un 12 de diciembre y la hembra portadora de éstos había sido capturada en el medio natural a mediados de noviembre. La puesta de los ejemplares nacidos y criados en la instalación no sucede hasta el mes de diciembre y la eclosión de los huevos tiene lugar en el mes de enero. ZARIQUIEY (1968) cita que es posible encontrar hembras con huevos en los meses de enero, marzo, mayo, agosto y diciembre.

### 3.2. Cría de larvas

Por lo que respecta a la forma y dimensión de los acuarios utilizados, sistemas de aireación-agitación, caldeoamiento del agua, iluminación, técnicas de cultivo de fito y zooplancton, así como de las características del agua, nos remitimos a las descripciones consignadas al hablar de la cría del langostino.



Foto 15.— Larva zoea de *Palaemon serratus*.

Del huevo del camarón nace una larva llamada zoea que con el abdomen extendido mide 3,8 mm (foto 15). Es de una coloración rojiza distinguiéndose en el cefalotórax una masa amarillo-parduzca formada por el vitelo que todavía no se ha reabsorbido. Posee dos grandes ojos compuestos, no pedunculados. A cada lado del cefalotórax tiene tres apéndices natatorios que baten el agua con movimientos rapidísimos. Nadan normalmente en posición vertical con la cabeza hacia abajo.

Al principio de su existencia no toma alimento ya que utiliza el vitelo. Mantenido en agua de mar filtrada por Millipore de 0,45  $\mu$ , es decir, sin

ningún tipo de alimento, pasa al segundo estado larvario. Contrariamente a lo observado por Sollaud (1923) hemos encontrado algunas larvas que han sobrepasado, en este agua filtrada incluso el estado II, mudando al estado III en el que han muerto.

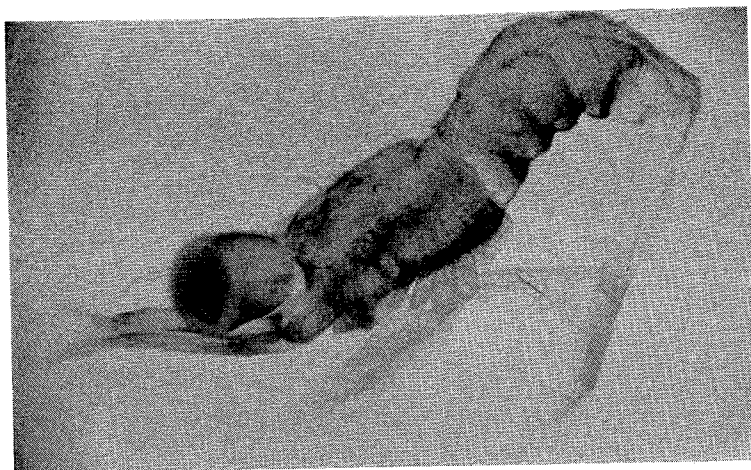


Foto 16. — Primer estado promysis de *Palaemon serratus*.

A partir del estado II (foto 16) se inicia la alimentación de las larvas, consistiendo ésta en el rotífero *Brachionus plicatilis*, en nauplios recién nacidos de *Artemia salina*, así como zooplancton del puerto de Castellón formado por copépodos, ostrácodos, larvas de braquiuros, larvas de cirrípedos, etc. Este zooplancton se obtiene mediante bombeo y posterior filtración del agua del Puerto, tal como se ha indicado anteriormente en la cría de larvas de langostino.

En repetidas ocasiones se han realizado experiencias para determinar el efecto de la presencia o ausencia de determinadas especies del fitoplancton en el medio sobre la supervivencia y el crecimiento de las larvas de camarón. También se ha determinado el consumo por larva de *B. plicatilis* y nauplios de *A. salina* a diferentes concentraciones por ml, con o sin fitoplancton. Dado que los mejores resultados se han obtenido con *Skeletonema costatum* y nauplios de *A. salina* se expone a continuación en el cuadro VI el resultado de estas experiencias.

Como puede apreciarse en el cuadro VI, dentro de los límites ensayados, el consumo de nauplios/larva, es en todos los estados directamente proporcional a la concentración de nauplios/ml. El consumo de nauplios/larva aumenta regularmente a medida que la larva pasa de un estado al siguiente.

CUADRO VI

Media de nauplios de *Artemia salina* consumidos por larva de camarón, en un medio conteniendo *Skeletonema costatum*, según diversas concentraciones de nauplios/ml

Estado larva	De 1 a 2 nauplios por ml	De 2 a 3 nauplios por ml	De 3 a 4 nauplios por ml	De 4 a 5 nauplios por ml	De 6 a 7 nauplios por ml	A 10 nauplios por ml
II	5,65	7,71	9,56	11,70	17,00	—
III	7,00	14,65	—	15,10	21,11	26,43
IV	13,00	17,65	20,00	20,68	—	—
V	23,00	20,17	21,50	33,79	—	—

A partir del estado V, es conveniente sustituir el nauplio de *A. salina* recién nacido por metanauplios y juveniles de esta especie.

A medida que las larvas han ido pasando del estado II al V, último estado promysis, y del estado VI al VIII, fase mysis, siguiendo la nomenclatura de SOLLAUD (1923), el alimento proporcionado varía en el sentido de que se suprimen los *B. plicatilis* y los nauplios de *A. salina*, sustituyendo estos últimos por ejemplares juveniles y adultos de la misma especie. Además se añaden cladóceros como *Daphnia magna*, tanto viva como congelada y en los últimos estados se complementa esta alimentación con huevos de cangrejo (*Macropipus depurator*) y carne de mejillón (*Mytilus edulis*) finamente triturada. Tanto los cladóceros como los huevos de cangrejo y la carne de mejillón permanecen largo tiempo en suspensión en el agua agitada por el aire inyectado al acuario, permitiendo a las larvas de camarón utilizar este alimento.

En el cuadro VII se exponen, como ejemplo, las características físico-químicas del agua en un acuario de cría de larvas de camarón.

Es fácilmente detectable el momento en que la larva mysis pasa a post-larva o juvenil ya que su aspecto y comportamiento cambia de forma brusca. La larva mysis que nadaba entre dos aguas con el telson hacia delante y la parte dorsal de su cuerpo hacia abajo, pierde, al pasar a post-larva, los exopoditos de las patas I a IV y se encuentra ya en las paredes del acuario o en el fondo del mismo, en igual posición que el adulto, caminando con los pereiópodos. Si nada lo hace con el rostro en la dirección del desplazamiento y la parte dorsal del cuerpo hacia arriba. En las experiencias realizadas se han encontrado las primeras post-larvas a los 15-16 días después de la eclosión.

Se les sigue alimentando con *A. salina* adulta, se suprime poco a poco el zooplancton y se incrementa la cantidad de carne de mejillón y cangrejo troceada.

CUADRO VII

Características físico-químicas del agua y otros datos de una experiencia de cría de larvas de camarón *Palaemon serratus* Pennant en un acuario de 2200 l de capacidad y 3,47 m<sup>2</sup> de superficie

Fecha	Temp. °C	pH	Salin. ‰	O <sub>2</sub> %	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	N.º cél.	OBSERVACIONES
12-12-73	23,5	7,9	38,21	99,7	14,9	—	Eclósión huevos. Abono Siembra <i>Skeletonema costatum</i> y EDTA.
13-12-73	23,8	7,9	37,74	99,8	18,3	280	Eclósión 300 l. <i>Skeletonema costatum</i> 60 l. rotíferos a 100/ml.
14-12-73	24,4	7,9	36,94	97,9	26,3	160	Eclósión. 100 l. <i>S. costatum</i> . 60 l. rot. 100/ml. Nauplios <i>A. salina</i> .
15-12-73	25,3	—	—	—	—	80	Eclósión. 60 l. rotíferos 100/ml. Nauplios <i>Artemia salina</i>
16-12-73	26,0	—	—	—	—	30	Eclósión. 500 l. <i>Skeletonema</i> 60 l. Rotíferos 120/ml.
17-12-73	26,0	8,0	35,79	98,3	49,1	130	250 l. <i>Skeletonema</i> 120 l. rotíferos a 120/ml. Nauplios <i>A. salina</i> .
18-12-73	25,5	8,0	34,90	93,8	60,4	70	Eclósión. 250 l. <i>Skel.</i> 60 l. rot. 145/ml. Nauplios <i>A. salina</i> .
19-12-73	25,4	7,9	34,99	95,5	75,8	180	Eclósión. 600 l. <i>Skel.</i> 60 l. rot. 130/ml. Nauplios <i>A. salina</i> .
20-12-73	24,5	7,9	34,47	91,7	86,0	—	Eclósión. 300 l. <i>Skel.</i> 60 l. rot. 140/ml. Nauplios <i>A. salina</i> . Circuito abierto durante la noche.
21-12-73	19,5	7,9	37,65	95,7	29,6	—	300 l. <i>Ske.</i> 60 l. rot. 90/ml. Nauplios <i>Artemia</i> . Circuito abierto.
22-12-73	18,3	—	—	—	—	—	500 l. <i>Ske.</i> 60 l. rot. 100/ml. Nauplios <i>Artemia</i> . Zoo Puerto.
23-12-73	21,5	—	—	—	—	—	400 l. <i>Ske.</i> 60 l. rot. 110/ml. Metanauplios <i>Artemia</i> . Zoo Puerto.
24-12-73	23,5	7,9	35,61	—	—	160	500 l. <i>Ske.</i> 40 l. rot. 100/ml. Metanauplios <i>Artemia</i> . Huevos cangrejo
25-12-73	24,6	—	—	—	—	170	400 l. <i>Ske.</i> 40 l. rot. 120/ml. Huevos cangrejo. Zoo Puerto.
26-12-73	23,5	7,7	34,90	—	—	100	450 l. <i>Ske. Artemia salina</i> . Zoo Puerto. Huevos cangrejo.
27-12-73	23,5	—	—	—	—	220	500 l. <i>Ske. A. salina</i> . Zoo Puerto. Circuito abierto noche.
28-12-73	17,8	7,7	36,85	—	—	70	600 l. <i>Ske.</i> 60 l. rot. <i>Artemia salina</i> . Huevos cangrejo. Mejillón molido. Circuito abierto durante la noche.
29-12-73	19,0	—	—	—	—	120	550 l. <i>Ske. EDTA. Artemia</i> . Mejillón molido y filtrado. Zoo Puerto.
30-12-73	21,5	—	—	—	—	—	400 l. <i>Ske. Artemia</i> juvenil y adulta. Mejillón y cangrejo molido y filtrado. Zoo Puerto.
31-12-73	23,0	—	—	—	—	170	250 l. <i>Ske. Artemia</i> juvenil y adulta. Mejillón y cangrejo molido y filtrado. Zoo Puerto.
1- 1-74	22,9	—	—	—	—	—	60 l. rotíferos a 160/ml. Metanauplios de adultos de <i>A. salina</i> . Mejillón y cangrejo molido y filtrado. Circuito abierto durante la noche.
2- 1-74	21,5	7,9	36,15	—	—	—	Aparecen las primeras post-larvas. 300 l. <i>Skeletonema costatum. Artemia salina</i> adulta. Mejillón y cangrejo.

NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en µg at. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/l. N.º células × 10<sup>3</sup>.

Siguiendo la metodología reseñada con anterioridad y según mediciones realizadas unos 200 días después de la eclosión del huevo, los crecimientos observados han sido los siguientes:

	<i>Machos</i>	<i>Hembras</i>	<i>Media</i>
Peso húmedo en g . . . . .	1,05	1,45	1,30
Longitud total en mm . . . . .	52,50	58,10	56,10

Estos resultados son ligeramente superiores a los obtenidos por REEVE (1969) y WICKINS (1972). El primero cita crecimientos de 51 mm al cabo de 200 días y el segundo, expresando el crecimiento en peso obtiene en este período ejemplares de 0,60 g.

#### 4. CRÍA DE PECES

*Solea solea* L. (Lenguado) y *Sparus aurata* L. (Dorada)

##### 4.1. Captura, transporte y mantenimiento de los reproductores

Los reproductores utilizados en estas experiencias se adquieren a los pescadores profesionales de la zona.

La época de puesta del lenguado se extiende desde el mes de mayo al de septiembre, capturándose los reproductores con artes de trasmallo en los fondos comprendidos entre 3 y 10 m.

El arte de trasmallo es muy práctico para la pesca de esta especie, en especial cuando se utiliza durante la noche, ya que el lenguado en las horas de luz se encuentra enterrado en el fondo marino, mostrándose más activo en las primeras horas de la noche y en las del amanecer.

Para el transporte de los reproductores se emplean recipientes de plástico de unos 50 l de capacidad con arena en el fondo, renovando 2 o 3 veces el agua del recipiente durante el transporte que tiene una duración aproximada de 1 hora.

Una vez en la instalación se han apreciado en algunos ejemplares lesiones en la región cefálica y caudal debidas a los hilos de nylon del arte de pesca. La supervivencia en los acuarios ha sido del 60 %.

En cuanto a la dorada, *S. aurata*, cuya época de puesta se extiende de octubre a enero, es frecuente pescar los reproductores en fondos de 5 a 20 m. Los pescadores profesionales utilizan en estos fondos, sobre todo al atardecer y durante la noche, el aparejo llamado palangre.

Los peces, al morder la carnada sujeta al anzuelo, quedan atrapados por

éste y una vez izados a bordo de la embarcación los pescadores cortan el hilo de nylon que sujeta el anzuelo, introduciendo las doradas en recipientes de plástico de 100 l de capacidad, llenos de agua de mar.

Durante el transporte, desde el lugar de la captura hasta las instalaciones, con una duración máxima de 1 hora, se renueva continuamente el agua del recipiente, mediante una bomba de la propia embarcación de pesca.

Una vez en la instalación y después de un corto período de aclimatación para elegir los ejemplares que se encuentran en mejores condiciones vitales, se anestesian y se procede a la extracción del anzuelo, utilizando solamente aquellas doradas que tienen el anzuelo incrustado en la cavidad bucal, despreciando las que lo tienen en el esófago.

Para el mantenimiento de los reproductores se han utilizado acuarios cilíndricos de fibrocemento de 1 m de diámetro y 0,6 m de altura, pintados internamente con poliéster y provistos de doble fondo y lecho de arena, así como otros de  $3 \times 2 \times 0,5$  m, contruidos de madera en contrachapado marino, recubiertos de fibra de vidrio y poliéster, también con doble fondo y lecho de arena.

Tanto uno como otro tipo de acuario se encuentran situados en una instalación al aire libre, recubierta únicamente por un techo de material plástico transparente.

El agua de mar utilizada en las experiencias procede de un pozo de captación, su salinidad oscila alrededor de 30 ‰ y la temperatura es del orden de 18-19° C.

La dieta alimentaria de los reproductores está constituida por moluscos (*M. edulis*), decápodos (*M. depurator*) y diversas especies de peces de escaso valor comercial, todo ello troceado.

Durante la aclimatación y por pérdida de escamas en la captura, algunos ejemplares, sobre todo de lenguado, han sufrido infecciones de tipo vírico y bacteriano que les ha producido lesiones en el tegumento, llegando en los casos más graves a lisis muscular.

#### **4.2. Técnicas de puesta inducida**

Los distintos lotes de reproductores de lenguado *S. solea*, capturados en época de puesta han sido inyectados con hormonas gonadótropas.

El tipo de hormona utilizado ha sido GCH (Gonadotropina coriónica humana) en dosis crecientes de 500, 1000 y 1500 U.I./kg de peso del ejemplar. Las dosis han guardado entre ellas un intervalo de 3 días y en algunas ocasiones, por falta de respuesta, se ha repetido el tratamiento hasta tres veces.



Solamente se ha obtenido respuesta positiva en las hembras, aunque los óvulos han mostrado anomalías en su constitución, falta de gota de grasa, o en sus dimensiones, 700-800  $\mu$ .

Por lo que se refiere a la dorada, *S. aurata* (foto 17), algunos de los reproductores han madurado de forma natural las gónadas en los acuarios, obteniéndose emisiones espontáneas de los productos sexuales, tanto en los machos como en las hembras.

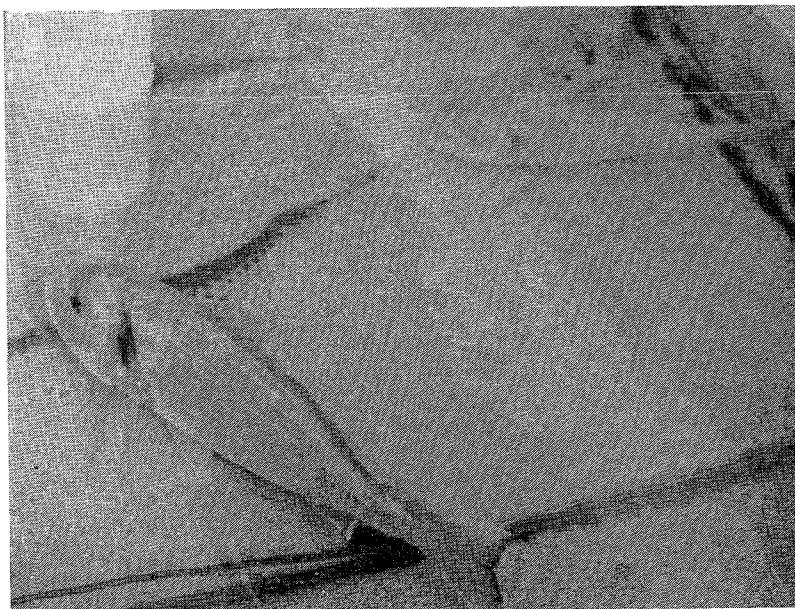


Foto 17.—Reproductores de dorada *Sparus aurata*.

También a esta especie se le han aplicado las técnicas de puesta inducida mediante inyección de GCH. Los reproductores, después de un corto período de aclimatación, han sido anestesiados con MS-222 a una concentración de 0,12 g/l e inyectados con dosis crecientes de GCH, a saber: 500, 1000 y 1500 U.I./kg de peso del ejemplar, a intervalos de 3 días. Los días transcurridos desde la primera dosis de GCH hasta la emisión de los productos sexuales han oscilado de 2 a 15, dependiendo del estado en que se encontraban las gónadas del ejemplar inyectado.

Por regla general los machos han emitido esperma a las 48 horas de inyectar la segunda dosis de GCH.

### 4.3. Incubación de los huevos

Los huevos de dorada (fotos 18 y 19), obtenidos por fecundación natural en los tanques en que se mantienen los reproductores, o por fecundación artificial mediante masaje abdominal de los ejemplares, se incuban en recipientes cilíndricos de 600 l de capacidad, llenos con agua de mar, procedente de un pozo de captación del que sale a una temperatura de 18° C. Estos acuarios funcionan en circuito abierto y con una ligera aireación-agitación.

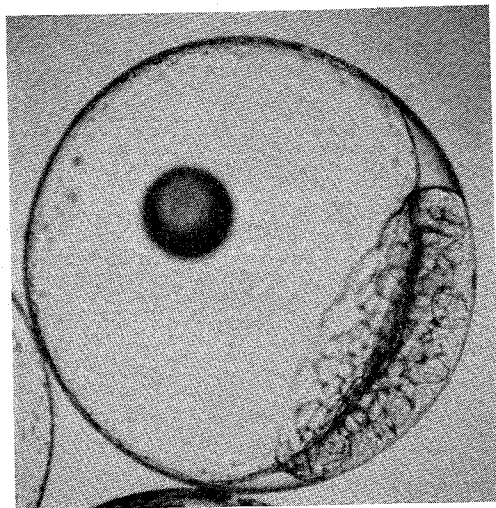


Foto 18. — Huevo en estado de blástula de *Sparus aurata*.

También se han realizado experiencias de incubación en recipientes de material plástico traslúcido de 60 l de capacidad, llenos con agua de mar procedente del puerto de Castellón, filtrada por Millipore de 0,8  $\mu$ , a una temperatura de 18° C y sin intercambio de agua.

El tanto por ciento de eclosión de los huevos ha sido mayor en los lotes tratados con agua procedente del pozo de captación que en los que se han mantenido con agua del Puerto. El período de desarrollo embrionario ha sido más corto en los primeros que en los segundos.

### 4.4. Cría de larvas

Se han mantenido las larvas (foto 20) tanto en agua del puerto de Castellón como en agua procedente del pozo de captación, pero dado que en

el primer caso hubo una mortalidad total, las experiencias se han continuado con el segundo tipo de agua.

Los acuarios utilizados para la cría de las larvas han sido los depósitos cilíndricos de 600 l de capacidad descritos anteriormente. Operan en circuito abierto, con una renovación de agua de 120 l/hora y a una temperatura de 18° C. Están situados en una instalación exterior y dotados de una lámpara de 60 W para la iluminación nocturna.

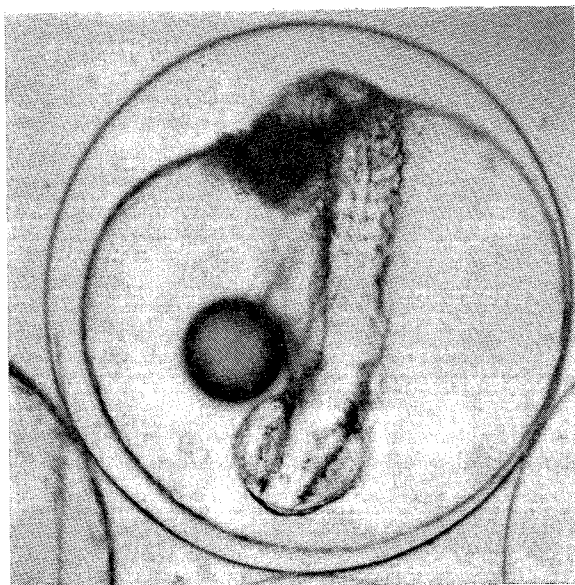


Foto 19. — Desarrollo del embrión de *Sparus aurata*.

Las larvas al cabo de 48 horas de vida han reabsorbido el vitelo (foto 21) y pronto se les abre la boca. Se inicia entonces una alimentación a base del rotífero *Brachionus plicatilis* a concentraciones de 20 a 25 rotíferos/ml. Progresivamente se aumenta la concentración de *B. plicatilis* hasta alcanzar, cerca de la metamorfosis (foto 22) 35 a 40 rotíferos/ml.

La concentración de larvas, después de la eclosión, es de 50 a 60 larvas/l pero, al cabo de 15 días y debido a las mortalidades habidas, esta concentración ha descendido a 8 larvas/l.

Cuando las larvas tienen 16 días de vida se incorpora a la dieta nauplios recién nacidos de *Artemia salina* a una concentración de 8 a 10 nauplios/ml.

A los 40 días la larva alcanza la metamorfosis pasando al estado de alevín. En este momento se inicia una dieta a base de metanauplios y juveniles de *A. salina* a concentraciones de 5 a 8/ml.

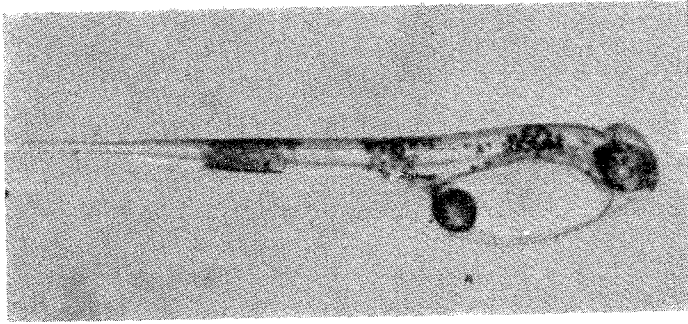


Foto 20. — Larva de *Sparus aurata* a las 24 horas de vida.

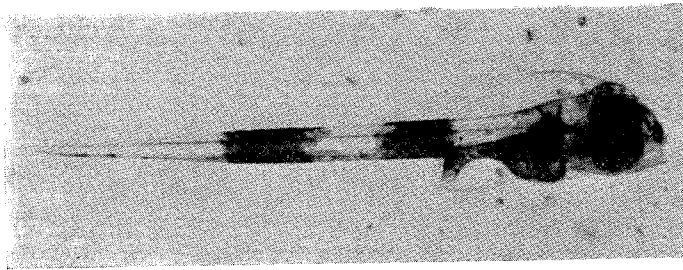


Foto 21. — Larva de *Sparus aurata* a las 48 horas de vida.

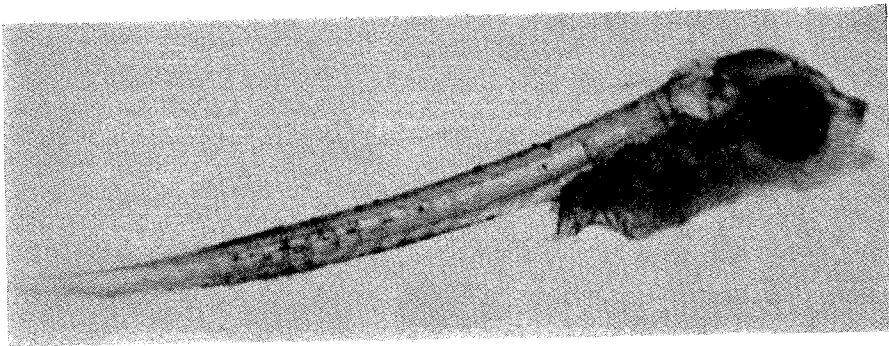


Foto 22. — Larva de *Sparus aurata* próxima a la metamorfosis.

Dado que estas experiencias hace escasos meses que se han iniciado en este laboratorio, no tenemos suficiente número de datos para poder exponer resultados más concluyentes sobre las supervivencias larvales. Se espera en un futuro próximo mejorar las técnicas actuales y obtener resultados más satisfactorios.

## 5. CONDICIONES DEL MEDIO

Diariamente se realizan análisis de las características del agua de los acuarios, tanto de las condiciones propias de la misma, como de las variaciones experimentadas por causa de los productos del metabolismo biológico de la materia orgánica contenida.

En relación con el primer grupo de parámetros, se llevan a cabo determinaciones de salinidad, utilizando un salinómetro Beckman modelo RS-7 B portable. El número de análisis diarios depende del número de acuarios en uso y de las posibles variaciones experimentadas por la salinidad en la mezcla con otros tipos de aguas.

Los valores encontrados generalmente oscilan entre los límites de 38 ‰ y 28 ‰. Este último valor es el más bajo de los detectados en el agua utilizada para los cultivos de fitoplancton.

Dadas las condiciones cambiantes del pH del agua de los acuarios, éste es el primer parámetro que se mide en las muestras. Las medidas se llevan a cabo con un pH-metro Metrohm, con escala gruesa y fina. Esta última escala abarca solamente dos unidades de pH y es la que se utiliza, permitiendo una apreciación de 0,01 unidad de pH.

El pH suele variar, lo mismo que en las aguas marinas, entre 7,70 y 8,30, pero en ocasiones se han detectado valores algo más bajos, ligeramente superiores a 7,5 y también valores por encima de 9,00, como por ejemplo en los recipientes en que se cultivan especies del zooplancton.

La temperatura se mide «in situ», en unos casos con termómetros ordinarios de mercurio y en otros con tele-termómetros de precisión de la Casa Ysi.

Las temperaturas, bien de forma natural o bien por el empleo de calentadores, permanecen en la época de puesta y cría de larvas, entre 26 y 28° C, aunque ordinariamente suelen ser algo más bajas. El límite inferior viene condicionado por los valores mínimos que presentan las aguas naturales que se utilizan en la instalación, siempre superiores a 12° C.

También las determinaciones de oxígeno se llevan a cabo «in situ», utilizando un determinador polarográfico de la Casa Ysi, modelo 54, que así mismo mide también temperaturas. Próximo al sensor lleva un vibrador que permite una circulación del agua en torno a la célula, a fin de renovar el medio continuamente, pues durante la medida se produce un ligero consumo de oxígeno.

El contenido de oxígeno se viene expresando en tanto por ciento de saturación. Se considera que el agua de los acuarios está suficientemente abastecida de oxígeno cuando su concentración es superior al 80 %, aunque

generalmente los valores detectados están por encima del 90 %. Se tiene la experiencia de que, una disminución del grado de saturación en oxígeno hasta un valor del 52 % no ocasionó la muerte de los ejemplares de la población juvenil de langostinos.

Al segundo grupo de parámetros controlados pertenecen: el contenido en nitritos y en amoníaco que también se determinan diariamente. El primero de estos parámetros se encuentra muy relacionado con el grado de descomposición de la materia orgánica en general, tanto disuelta como en suspensión, mientras que el amoníaco es un índice del grado de contaminación por los productos residuales del metabolismo de los ejemplares existentes en los acuarios.

En las determinaciones de nitritos se emplea el método basado en la diazotación de la alfa-naftilamina y copulación con ácido sulfanílico para la formación de un azo-compuesto coloreado. La intensidad del color, proporcional al contenido en nitritos, se mide en un espectrofotómetro Beckman DU a una longitud de onda de 524 m $\mu$ .

El contenido en nitritos se expresa en  $\mu\text{g at. NO}_2^- \text{-N/l}$  y los valores hallados están condicionados a diversas circunstancias, tales como el contenido inicial del agua suministrada, la población existente en los acuarios y el grado de limpieza diaria a que se someten los mismos. Generalmente los valores encontrados varían de 0,5 a 2,0  $\mu\text{g at. NO}_2^- \text{-N/l}$ , pero en determinadas condiciones se elevan hasta 30-40 o más.

En condiciones extremas se han llegado a detectar valores de 75 y superiores, en un acuario conteniendo post-larvas de langostino con elevadas mortalidades. Cuando los valores son tan elevados, para su determinación es necesario diluir la muestra problema con agua destilada en la proporción de 1/10, 2/10, 5/10, etc., de acuerdo con determinaciones previas, pues la cantidad de colorante azo-compuesto formado, debido a su baja solubilidad en agua, da lugar a precipitaciones del mismo que producen turbideces y restan color al medio, ocasionando determinaciones erróneas.

Últimamente se viene determinando el contenido en amoníaco en un aparato Auto-analizador Technicon que ha sustituido al método primitivo de Solorzano. El nuevo sistema, basado químicamente en el anterior, además de normalizar las operaciones, ofrece las ventajas de su rapidez y de presentar los resultados gráficamente.

La cantidad de amoníaco existente en los acuarios se expresa en  $\mu\text{g at. NH}_4^+ \text{-N/l}$ . Los valores hallados más frecuentemente oscilan entre 7 y 16  $\mu\text{g at. NH}_4^+ \text{-N/l}$ , aunque estos límites en ocasiones suelen ser sobrepasados con mucho, por ejemplo, cuando existe una elevada población o

un escaso intercambio de agua, produciéndose entonces grandes mortalidades.

En los acuarios con cultivo de fitoplancton y en las grandes bolsas de polietileno transparente dedicadas al mismo fin, se determina la concentración de los siguientes nutrientes: fosfatos, nitratos y silicio.

El primero se determina con un aparato Auto-analizador Technicon siguiendo un método suministrado por la Casa ligeramente modificado para acoplarlo a las necesidades de este laboratorio. El método se basa en la reducción por ácido ascórbico, del ácido fosfomolibdico que se forma en la reacción del ortofosfato y el molibdato amónico en medio ácido. Se mide la absorción del azul de molibdeno formado.

Los nitratos también se determinan en un aparato Auto-analizador Technicon, según el método facilitado por dicha Casa e inspirado en los de ARMSTRONG, STERN y STRICKLAN (1967) y GRASSHOFF (1969). La reducción se lleva a cabo en una columna de cadmio cobreado. El ion nitrito obtenido en la reducción, se copula con derivados de la alfa-naftilamina y el ácido sulfanílico, midiéndose la absorción del azo-compuesto resultante.

El silicio se determina por el método de ROBINSON y THOMPSON (1948) que se basa en la medida de la absorción del complejo amarillo ácido sílico molibdico. Como solución tipo de Si se utiliza una suministrada por la Casa Merck, convenientemente diluida. La determinación de la intensidad del color se lleva a cabo con un espectrofotómetro Beckman DU.

Todas estas determinaciones se realizan para conocer la pérdida que experimentan los nutrientes durante la proliferación del fitoplancton y poder hacer así las adiciones necesarias para mantener el nivel inicial de concentración adoptada.

## RESUMEN

Se describen, en este trabajo, las técnicas de Acuicultura empleadas en el Laboratorio de El Grao de Castellón del Instituto de Investigaciones Pesqueras para la obtención de puestas y cría de larvas de Crustáceos y Peces, tales como el langostino (*Penaeus kerathurus*), camarón (*Palaemon serratus*), lenguado (*Solea solea*) y dorada (*Sparus aurata*).

En la instalación se cultivan además diversas cepas del fitoplancton y se crían varias especies del zooplancton.

El fitoplancton cultivado está constituido por Diatomeas, Crisofíceas y Clorofíceas marinas, así como el alga de agua dulce *Scenedesmus obliquus*. Como medio de cultivo se utiliza el de GUILLARD y RYTHER 1962).

Las concentraciones de cultivo obtenidas, expresadas en cél/ml, varían desde  $2 \times 10^5$  en *Asterionella japonica* hasta  $12 \times 10^6$  en *S. obliquus*.

Las especies de zooplancton criadas son: Rotífero (*Brachionus plicatilis*), Branquiópodo (*Artemia salina*) y el Cladóceros (*Daphnia magna*). Con el primero se llegan a obtener concentraciones medias de 270 ejemplares/ml, con *A. salina*, partiendo de inóculos de 4 g de huevos, se obtienen, al cabo de 20 días, 1 kg (peso húmedo) de *A. salina* adulta. En las experiencias de cría del Cladóceros, partiendo de inóculos de 35 g (peso húmedo) se obtienen en 10 días 400 g de *D. magna* (peso húmedo).

Las hembras de langostino empleadas para la obtención de puestas son capturadas con artes de trasmallo.

El transporte de las hembras, cuando tiene corta duración, se realiza en recipientes con agua de mar, renovada periódicamente o aireada. Para transportes largos (10 horas entre coche y avión) se han utilizado bolsas de plástico herméticamente cerradas, con agua de mar hasta la mitad de su capacidad, fondo arenoso y atmósfera de oxígeno. Las bolsas se introducen en recipientes aislantes para protegerlas de las variaciones térmicas.

Para la puesta se han utilizado diversas formas y tamaños de acuarios, pero todos van provistos de doble fondo, con lecho de arena sobre éste y con un fondo real en tres planos inclinados.

El agua, en la que se produce la puesta, está previamente esterilizada y filtrada. Su salinidad se modifica hasta 34 ‰, su temperatura hasta 28° C y se la mantiene bien oxigenada mediante un número apropiado de difusores de aire.

A las 14-15 horas después de la puesta, tiene lugar la eclosión del huevo y las larvas empiezan a comer a los dos días de su nacimiento. La concentración inicial de nauplios I en estas experiencias, suele ser de 75-100/l, quedando reducida a 35-40/l en el primer estado postlarvario.

Las larvas de langostino empiezan alimentándose con Diatomeas, pero a partir del estado larvario zoea III, se añade además zooplancton de pequeña talla. A los 14-15 días después de la eclosión, las larvas han alcanzado el estado postlarvario y se les suministra como alimento carne troceada de cangrejo y mejillón así como *Artemia salina* adulta.

De todo este proceso se lleva un control diario riguroso ya que, por estudios experimentales realizados sobre muestras controladas, se conoce el consumo diario por larva y estado, tanto de *Brachionus plicatilis*, como de *Artemia salina* o de *Daphnia magna*.

En las mejores condiciones de cría, se han conseguido supervivencias larvarias del 77 %, desde el primer estado nauplio (N 1) al primer estado postlarvario (P 1). En tales casos han concurrido los siguientes factores: abundantes suministros de fito y zooplancton, pH alcalino, concentraciones de oxígeno próximas a la saturación y bajos contenidos de amoníaco y nitritos.

En las experiencias de cría del camarón *Palaemon serratus*, las hembras con huevos proceden del puerto de Castellón o son ejemplares nacidos en las propias instalaciones.

Es muy importante que la eclosión de los huevos tenga lugar en el menor espacio de tiempo posible para conseguir así que el tamaño de las larvas sea uniforme, evitando el canibalismo.



La alimentación de las larvas de camarón se empieza en el estado II, y consiste en el Rotífero *B. plicatilis*, en nauplius de *A. salina* y otros pequeños elementos del zooplankton marino, en un medio conteniendo Diatomeas.

A medida que la larva crece es conveniente sustituir la dieta primitiva por elementos del zooplankton de mayor tamaño o por carne de mejillón finamente triturada.

En las experiencias encaminadas a determinar el consumo de nauplios de *A. salina* por larva de camarón, se ha llegado a comprobar que este consumo es directamente proporcional a la concentración de nauplius/ml y que aumenta regularmente a medida que la larva pasa de un estado al siguiente.

Los crecimientos observados durante 200 días, son ligeramente superiores a los consignados por otros autores.

Por lo que respecta a la cría del lenguado, *Solea solea*, y dorada, *Sparus aurata*, los reproductores se adquieren a los pescadores locales que capturan el primero con artes de trasmallo y la segunda con el aparejo de palangre.

Una vez los ejemplares en la instalación se mantienen en acuarios cilíndricos o rectangulares con agua de mar procedente de un pozo de captación y se les alimenta con mejillón, cangrejo y especies de peces de poco valor comercial.

En el lenguado, el uso de la GCH para la inducción a puesta, sólo ha conseguido respuestas positivas en las hembras, aunque con óvulos anormales a pesar de emplear dosis sucesivamente crecientes de 500, 1000 y 1500 U.I./kg cada tres días, con repetición. En cambio dicha hormona, a las dosis citadas, ha sido eficaz en el caso de la dorada. La respuesta, entre 2 y 15 días, estaba íntimamente ligada con el desarrollo alcanzado por las gónadas en el momento de la captura. También se han obtenido puestas naturales.

Los huevos de dorada, obtenidos por fecundación natural o artificial, mediante masaje abdominal, se incuban en acuarios cilíndricos de 600 l de capacidad, con agua de mar obtenida de un pozo de captación, a una temperatura de 18° C, una salinidad de 30 ‰ y una ligera aireación. A las 48 horas de vida las larvas reabsorben el vitelo y pronto abren la boca. Se les alimenta con rotíferos en cantidad creciente y a los 16 días se les suministra nauplios de *A. salina* recién nacidos. A los 40 días, cuando han alcanzado el estado de alevín, se cambia la dieta a metanauplios y juveniles de dicha especie.

Por haberse iniciado las experiencias de cría del lenguado y la dorada hace escasos meses, no se tienen datos concluyentes sobre la cría de las citadas especies.

Las determinaciones físicas y químicas contribuyen al conocimiento del estado del medio en el que se realizan las distintas experiencias de cría. Diariamente se determinan: salinidad, mediante salinómetro; temperatura, «in situ»; nitritos y silicio, colorimétricamente con un espectrofotómetro Beckman DU; amoníaco, con un aparato Autoanalizador Technicon, usando métodos apropiados para esta técnica. El contenido en nitritos se procura, en lo posible, no rebase el umbral de 30-40 µg at. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/l y el de amoníaco los 20 µg at. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/l. También se llevan a cabo determinaciones de nutrientes.

## SUMMARY

EXPERIMENTAL CULTURE OF PRAWN AND FISH LARVAE IN TANKS.—In this paper are described the aquaculture methods employed for spawning and rearing prawns *Penaeus kerathurus* and *Palaemon serratus* larvae, and fishes *Solea solea* and *Sparus aurata* larvae, in the laboratory of El Grao de Castellón, Instituto de Investigaciones Pesqueras.

In this laboratory are mass cultured several phytoplankton and zooplankton strains and species.

Amongst the algae, marine Diatoms, Chrysophyceae and Chloroficeae, and freshwater *Scenedesmus obliquus*, are reared. The culture medium employed in GUILLARD and RY-THER's (1962).

Mass culture of algae provide considerable amounts of phytoplankton, at concentrations between  $2.10^5$  cells/ml for *Asterionella japonica* and  $12.10^6$  cells/ml for *S. obliquus*.

Zooplankton species reared are: *Brachionus plicatilis* (Rotatoria), Brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda) and *Daphnia magna* (Cladocera). Rotifer mass culture gives 270/ml mean concentrations. Brine shrimp provides with 1 kg (wet weight) of adults after 20 days in mass rearing, starting with 4-5 gr. eggs inoculum, and *D. magna* gives amounts of 400 gr. (wet weight) after 10 days, starting with 35 gr. (wet weight).

*P. kerathurus* females ready to spawn are caught at sea by means of trammel nets. These females are carried to the laboratory into simple plastic containers with sea water, periodically renewed, and air bubbling. For longer carrying (10 hours between car and plane) plastic bags hermetically closed, with sea water, sand on the bottom and oxygen atmosphere, are employed. These bags are prevented from thermic changes.

Spawning is carried in tanks of different form and size. All these tanks are provided with double bottom system, with a sand bed on the false bottom and a three slopes shape in the very bottom.

Sea water for spawning is filtered and U.V. light sterilized. Its salinity is brought to 34 ‰ and temperature to 28° C, while is kept well oxygenated by air bubbling through several air stones.

Fourteen to fifteen hours after spawning the females, eggs do hatch, and larvae begin to feed 2 days later. At first, nauplius I concentration is about 75-100/litre, decreasing to about 35-40/litre in the first postlarval state.

Initially *P. kerathurus* larvae are fed with Diatoms. After zoea III state this food is complemented with small size zooplankton. Fourteen to fifteen days after hatching, these larvae reach postlarval stage, then they are fed minced crab and mussel flesh and adult brine shrimp.

This process is daily controlled because, previous experimental control tests gave a good knowledge about consumption of rotifer, brine shrimp and cladocera, per larva and larval state.

Best larval rearing success gave 77 % survival from nauplius (N 1) to first postlarval state (P 1), when meeting several factors, i.e.: Good phytoplankton and zooplankton supplies, slightly alkaline pH, oxygen concentration close to saturation and slow ammonia and nitrites content.

*Palaemon serratus* females ready to spawn are either caught in Castellón harbour or those kept as reproducers stock in the laboratory. In this procedure is important to keep a time as short as possible amongst hatchings, to have uniformity in larvae size, regarding to avoid cannibalism.

*P. serratus* larvae (II state) are fed *B. plicatilis*, brine shrimp nauplius and other zooplankters caught at sea, in a water medium with addition of Diatoms. While increasing in size this larvae are fed bigger zooplankters and minced mussel flesh.

Control tests on *P. serratus* larvae, feeding on brine shrimp nauplius gave awareness on a stright ratio between consumption and nauplius concentration, this ratio increasing

for progressive instars. Growth rates observed are slightly faster than those reported by other workers.

With regard to *Solea solea* and *Sparus aurata* culture, reproducers are bought to local fishermen, who catch them by means of trammel net and line. In the laboratory adults are kept in rectangular and cylindrical tanks, the water coming from a well. They are fed crab, mussel and coarse fish.

Spawn inducing in sole with GCH, was only successful in females, but giving only abnormal eggs, despite of 500, 1000 and 1500 U.I./kg increasing doses, repeated every 3 days. Furthermore it was successful with *Sparus aurata*. Between 2 and 15 days, responses were according to gonads development when individuals were caught. Natural spawnings were successful to.

*S. aurata* eggs just spawn, hatch in 600 litres cylindrical tanks. Sea water coming from a well is kept at 18° C, 30 ‰ salinity, and provided with slight air bubbling. Forty eight hours after hatching, larvae resorb the yolk and open the mouth. They are fed increasing amounts of rotifers, and 16 days later they are supplied just hatched brine shrimp nauplius, and brine shrimp metanauplius and juveniles 40 days later on.

These rearing fish larvae methods are quite recently developed here, so there's a lack on concluding data about their good success.

Physical and chemical controls are performed every day, to be aware on the mean culture conditions in which rearing experiences take place. Salinity by salinometer; temperature «in situ»; nitrite and silicate by Beckman DU colorimetric spectrophotometer; ammonia by Technicon Autoanalyzer, are daily tested. Nitrite and ammonia are kept under 30-40 µg at. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/l and 20 µg at. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/l as best as possible. Mineral nutrients in phytoplankton cultures are also controled.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALESSIO, G., G. GANDOLFI y B. SCHREIBER.— 1975. Tecniche e metodiche generali di riproduzione artificiale dell'orata, *Sparus aurata* (L) (Osteichthyes, Sparidae). *Inv. Pesq.*, 39 (2): 417-428.
- ARMSTRONG, F. A. J., C. R. STERN and J. D. STRICKLAND.— 1967. The measurement of upwelling and subsequent biological processes by means of the Technicon Auto Analyzer and associated equipment. *Deep Sea Res.*, 14: 381-389.
- BARNABE, G. et F. RENE.— 1973. Reproduction contrôlée et production d'alevins chez la dorade, *Sparus aurata* Linnè. *C. R. Acad. Sc. Paris*. 276, D: 1621-1624.
- FLUCHTER, J.— 1972. Rearing of common sole (*Solea solea* L.) in small containers and in high density under laboratory conditions. *Aquaculture*, 1 (3): 289-291.
- FORSTER, G. R.— 1951. The biology of the common prawn *Leander serratus* Pennant. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 30: 333-360.
- GRASSHOFF, K.— 1969. Technicon International Congress.
- GUILLARD, R. R. L. and J. H. RYHER.— 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) *Gran. Can. J. Microbiol.*, 8: 229-239.
- LUMARE, F. e P. VILLANI.— 1973. Maturità sessuale indotta e fecondazione artificiale in *Sparus aurata* (L.). *Inv. Pesq.*, 37 (1): 57-71.
- PARDO, L.— 1951. Acuicultura continental. Salvat Editores, S. A., 443 p.
- PHILLIPS, G.— 1971. Incubation of the english prawn *Palaemon serratus*. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 51: 43-48.
- REEVE, M. R.— 1969. The laboratory culture of the prawn *Palaemon serratus*. *Fishery Invest.* London. Ser. 2, 26 (1), 38 p.
- RENE, F.— 1973. Rearing of gilt-head *Sparus aurata*. Report Int. Symp. early life history fish. FAO. *Fish. Reports.*, n.º 141.
- ROBINSON, R. J. and T. G. THOMPSON.— 1948. The determination of silicate in sea water. *J. Mar. Res.*, 7: 49-55.
- SAN FELIU, J. M.— 1964. Primeras consideraciones sobre la biología del langostino *Penaeus kerathurus* (Forskäl, 1775). *Publ. Tec. Jun. Est. Pes.*, 3: 151-173.
- 1966a. Observaciones sobre la muda y el crecimiento del langostino *Penaeus kerathurus* (Forskäl, 1775), en acuario. *Inv. Pesq.*, 30: 685-705.
- 1966b. Nuevas observaciones sobre el comportamiento del langostino. *Publ. Téc. Jun. Est. Pesca*, 5: 157-177.
- 1969. Experiencias de cría de langostino en tanques. *Ibidem*, 8: 213-225.
- SAN FELIU, J. M. y M. ALCARAZ.— 1971. Estudio de la alimentación en el langostino. *Ibidem*, 9: 239-252.
- SAN FELIU, J. M., F. MUÑOZ y M. ALCARAZ.— Técnicas de cría artificial de crustáceos. *Inv. Pesq.*, 37 (3): 557-576.
- — — 1974. Conditions écologiques dans l'élevage des crustacés. *Inf. Téc. Inst. Inv. Pesq.*, 14: 87-94.
- SOLLAUD, E.— 1923. Le développement larvaire des «Palaemoninae». *Bull. biol. France Belg.*, 57 (4): 509-603.
- SORGELOOS, P. and G. PERSOONE.— 1972. Three simple culture devices for aquatic invertebrates and fish larvae with continuous recirculation of the medium. *Mar. Biol.*, 15: 251-254.
- WICKINS, J. F.— 1972. Developments in the laboratory culture of the common prawn *Palaemon serratus*. *Fishery Invest.*, 11, 27, 4: 23 p.
- ZARIQUIEY, R.— 1968. Crustáceos decápodos ibéricos. *Inv. Pesq.*, 32: 510 p.