

FACULTAD DE CIENCIAS
GRADO EN CIENCIAS DEL MAR
TRABAJO FIN DE GRADO
CURSO ACADÉMICO [2015-2016]

TÍTULO:

**PROTOCOLO DE ALIMENTACIÓN EN *SERIOLA DUMERILI*:
EFECTOS EN CRECIMIENTO Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS.**

AUTOR:

SERGIO ICARDO BELMONTE

RESUMEN

La *Seriola dumerili* es, en principio, una especie idónea para acuicultura gracias a tres importantes características; su facilidad para adaptarse a la ingesta de alimento manufacturado, su alta tasa de crecimiento y su elevado valor en el mercado, lo que la convierte en una atractiva posibilidad para diversificar la oferta de las empresas del sector. Sin embargo, en la práctica presenta dos problemas que merman el interés de las empresas por esta especie: la producción de juveniles en cantidad suficiente para abastecer a las granjas de engorde, problema ocasionado en parte por carencias nutricionales de los reproductores, y la alta mortalidad que presentan debido a diversas patologías causadas por hongos, virus, bacterias y especialmente parásitos, lo que disminuye los beneficios empresariales.

El presente trabajo se centra en encontrar la mejor rutina de alimentación para esta especie entre las distintas probadas, con el fin de mejorar la nutrición de los individuos, lo que repercutirá en un aumento de la reproducción y una mayor resistencia a los problemas biosanitarios a los que se enfrenta.

Para ello hemos dispuesto de 600 ejemplares de *Seriola dumerili* de 22.12 ± 0.22 g y 10.71 ± 0.07 cm, distribuidos en 24 tanques de 0.5 m³ a razón de 25 individuos por tanque, sometidos a distintas dietas variando tanto el proceso de alimentación, como el número de tomas diarias y la cantidad de alimento suministrado (pienso seco compuesto comercial). Después se han comparado los resultados obtenidos para distintos parámetros analizados; directamente nutricionales como son la tasa de crecimiento, el factor de condición y el índice de conversión de alimentos; inmunológicos como los niveles de lisozima y peroxidasa en el suero sanguíneo, y patológicos como la concentración de proteínas, colesterol, glucosa, triglicéridos, fosfatasa alcalina, glutamato oxalacetato transaminasa, lactato deshidrogenasa y lipasa en el plasma.

A la vista de los resultados obtenidos podemos decir que el mayor crecimiento corresponde a los ejemplares alimentados a saciedad tres veces al día, seguido de aquellos alimentados al 3.5% de biomasa 3 o 4 veces diarias, con resultados muy similares. El menor crecimiento lo experimentan los peces alimentados a saciedad una única vez, que además, junto con el resto de estrategias alimenticias de una sola toma, presentan las mayores concentraciones en los parámetros relacionados con los niveles de estrés y otras patologías.

Abstract

Seriola Dumerili is an ideal species for aquaculture due to three important features, its ability to adapt to artificial food intake, its high growth rate and its high market value. These characteristics make this species an attractive opportunity to diversify the offer of products available in the companies of the sector. However, there are two problems that undermine the interest of companies for this species. On the one hand, the quantity of juvenile specimens

produced is not high enough to supply the fattening farms. This situation occurs, in part, because of nutritional deficiencies suffered by the fish. On the other hand, this species suffers also from a high mortality rate due to diseases caused by fungi, viruses, bacteria and parasites especially. These facts reduce corporate profits.

This work focuses on finding the best feeding routine for this species involving the different habits tested, in order to improve the nutrition of individuals, which will result in an increased reproduction rate and a greater resistance to the health problems that this species is facing.

To develop this project, we have prepared 600 fish of *Seriola Dumerili* of 22.12 ± 0.22 g and 10.71 ± 0.07 cm, distributed in 24 tanks of 0.5 m³ at 25 individuals per tank. The specimens have been exposed to different diets varying the feeding process, the number of daily doses supplied and also the amount of food offered (commercial dry fishmeal). After that, the obtained results have been compared according to the different parameters analyzed. Nutritional parameters, such as growth rate, condition factor and feed conversion rate. Immunological, as lysozyme levels and peroxidase in the blood serum. Pathological, as protein concentration, cholesterol, glucose, triglycerides, alkaline phosphatase, transaminase glutamate oxaloacetate, lactate deshydrogenase and lipase in plasma.

Considering the results obtained, we can say that the greatest growth rate corresponds to the specimens fed three times a day to satiety. Very similar results have shown those fed with 3.5% of their body weight 3 or 4 times a day. The lowest growth rate has been experienced by fish fed only once to satiety, together with those fish fed using nutritional strategies based on one intake. The former fish have shown the highest concentrations in the parameters related to stress levels and other pathologies.

PALABRAS CLAVE

Seriola dumerili - crecimiento - alimentación - patologías -hematológicos

ÍNDICE¹

1- INTRODUCCIÓN.....	1
2- ANTECEDENTES.....	2
3- OBJETIVOS.....	6
4- MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
4.1 Cronograma.....	9
4.2 M0 - Muestreo inicial. Comienzo del experimento.....	9
4.3 Protocolo de alimentación.....	10
4.4 Recogida del pienso sobrante de cada tanque. Recuento de bajas.....	11
4.5 Mantenimiento y limpieza de los tanques.....	12
4.6 M1, M2, M3 - Muestras de seguimiento 1, 2 y 3.....	13
4.7 M4 - Muestreo final.....	13
4.8 Análisis en el centro de las muestras recogidas.....	14
4.9 Recopilación de datos.....	15
5- RESUMEN DE LOS DATOS RECOPIADOS.....	15
5.1 Mortalidad.....	15
5.2 Parámetros nutricionales.....	15
5.2.1 Peso.....	15
5.2.2 Talla Furcal (Talla F).....	17
5.2.3 Factor de condición (K).....	18
5.2.4 Índice específico de crecimiento diario SGR (Specific Grow Rate).....	18
5.2.5 Factor de conversión de alimento FCR (Feed Conversion Rate).....	20
5.3 Parámetros hematológicos del plasma.....	21
5.4 Parámetros hematológicos del suero.....	23
6- DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	24
7- CONCLUSIÓN.....	27
8- REFERENCIAS.....	28

¹ Las entradas del índice implementan función de hipertexto, así como los encabezados del documento que devuelven al índice

1- INTRODUCCIÓN

La alta tasa de crecimiento, la buena adaptación a la cautividad, aceptando alimentación manufacturada, y la elevada valoración gastronómica, hacen del medregal (*Seriola dumerili* Risso, 1810), una especie emergente en acuicultura. No en vano, junto con la corvina (*Argyrosomus regius*) y el lenguado (*Solea senegalensis*), se propone como una de las especies con mayor potencial para diversificar las actuales producciones de dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*) (InterAqua C.B., 2013). Hay estudios para esta especie que indican una tasa de crecimiento 10 veces superior a la de la lubina cultivada en el mismo periodo de tiempo (Muraccioli *et al.*, 2000), de ahí el interés en la investigación para encontrar unas condiciones óptimas de cultivo que permitan una elevada producción. Esta depende, en gran medida, de la buena adaptación de los animales a las condiciones de cultivo y un factor primordial en este proceso de adaptación es el diseño de un protocolo de alimentación (Jerez *et al.*, 2009) que tenga en cuenta tanto la cantidad de alimento proporcionado, como la forma de hacerlo y el número de tomas diarias, no solo para lograr el mayor crecimiento de los peces (Shearer, 1994; Johansen y Jobling, 1998), sino para conseguir mantener la salud y el bienestar de los mismo, ya que rutinas inadecuadas pueden originar estrés y diversas patologías (Ellis *et al.*, 2002).

Actualmente existen varias especies dentro del género *Seriola* con atractivo comercial, siendo las especies pacíficas (*S. quinqueradiata* y *S. lalandi*) sobre las que más se ha estudiado, especialmente en Japón y Australia (Ikenue y Kafuku, 1992; Nakada, 2002; Ottolenghi *et al.*, 2004).

Este trabajo se centrará en el estudio de la *Seriola dumerili*, por ser la especie autóctona del mediterráneo (aunque no solo podemos encontrarla aquí) cuyo cultivo se ha encontrado tradicionalmente con dos problemas que disminuyen las expectativas puestas en la obtención de esta especie; dificultades en la producción de juveniles, lo que podría ser consecuencia de una mala nutrición de los reproductores y patologías diversas cuya prevalencia y mortalidad, en algunos casos, puede ser del 100% como ocurre en las infecciones por ectoparásitos (Alcaide, 2003; Hagiwara *et al.*, 2011; Hirayama *et al.*, 2009; Hirazawa *et al.*, 2010, 2001; Ogawa *et al.*, 1995; Ohno *et al.*, 2008).

Por todo ello, el presente trabajo tiene un doble objetivo; determinar las tasas de crecimiento y eficiencia alimenticia ante distintos procedimientos de alimentación, con el fin de ayudar a encontrar una dieta específica que se adapte a esta especie mejorando

su calidad nutricional y estudiar como los distintos protocolos de alimentación afectan a algunos parámetros hematológicos relacionados con la aparición de estrés o distintas patologías.

2- ANTECEDENTES

La *Seriola mediterránea* o pez limón (*Seriola dumerili*), también denominado comúnmente medregal en la zona de Sanlúcar, Chipiona (Junta de Andalucía, 2001) y



Seriola dumerili

Canarias, es un teleósteo perciforme perteneciente a la familia Carangidae (De la Gándara, 2006). Es un pez tanto epibentónico como pelágico que se encuentra a menudo cerca de arrecifes o en hoyos profundos en mar abierto o bajíos. Normalmente forma cardúmenes de pequeño o moderado tamaño aunque pueden ser solitarios. Su distribución en el Atlántico no está bien establecida ya que se la confundía con la *Seriola carpenteri*, sí se sabe que se encuentra desde el Mediterráneo al Golfo de Vizcaya, raramente por las costas británicas y de Nueva Escocia hasta Brasil, Sudáfrica, Golfo Árabe, Australia, Japón e Islas Hawái (Fischer *et al.*, 1987; Gallego, 1978; Smith-Vaniz, 1986).

La *Seriola dumerili* empezó a cultivarse en el Mediterráneo en la segunda mitad de la década de los 80 (De la Gándara, 2006). Desde entonces se han realizado numerosos estudios sobre el crecimiento y la mortalidad que presenta esta especie en distintos medios (jaulas sumergidas, jaulas flotantes o tanques en tierra), en su mayoría relacionados con el tipo de alimentación recibida (sólo pescado, pienso semihúmedo, pienso seco o dietas mixtas), cabe destacar su buena adaptación a la cautividad aceptando alimentación artificial (García-Gómez, 2000).

Así por ejemplo, experimentos realizados en jaulas flotantes constataron en Sicilia (Italia) un aumento de peso de 80 a 400g en 50 días (Giovanardi *et al.*, 1984), en el litoral de Murcia (España) el crecimiento fue de algo más de un kilo en un año (Navarro *et al.*, 1987) y en las costas Catalanas (España) se llegó a conseguir un crecimiento aproximado de 1600g en 9 meses, pero la mortalidad fue del 83.22 % (Boix *et al.*, 1993).

A la par se realizaban experimentos en tanques en tierra obteniéndose en Sicilia un aumento de 1200g en 400 días con una mortalidad del 15% (Cavaliere *et al.*, 1989), mientras que otro trabajo del mismo año indica un crecimiento de 1400g en 11 meses

pero con una mortalidad muy inferior a las conseguidas hasta la fecha, de entre 5-6% (Lazzari y Barbera, 1989).

Cabe destacar que hasta el momento la alimentación en todos los experimentos era exclusivamente a base de pescado, en 1993 se probó con despojos de pollo pero los resultados fueron malos (Greco *et al.*, 1993). En 1993 se realizó el primer intento de alimentación de *Seriola dumerili* con pienso semihúmedo (García-Gómez, 1993), los resultados obtenidos, engorde de 65g a casi 400g en 150 días, indicaron que esta dieta era adecuada y comparable a la de la dieta basada únicamente en pescado, sin embargo, la supervivencia fue significativamente superior, esto se debe a que el pescado utilizado como alimento contiene sus propios parásitos que en ocasiones transmite a la especie alimentada. A partir de entonces se realizaron diversos experimentos comparando los resultados obtenidos al alimentar los ejemplares solo con pescado frente al uso de pienso. Diversos trabajos llevados a cabo en jaulas sumergidas en Sicilia (Mazzola *et al.*, 1996; Mazzola *et al.*, 1999; Mazzola *et al.*, 2000) concluyeron que, aunque la mortalidad fue baja en ambos casos, el rendimiento era muy superior en el primero donde el aumento fue de 1500g aproximadamente, mientras que en el segundo caso fue de 800g. A la misma conclusión se llegó en Croacia al estudiar el crecimiento de juveniles en tanques de cemento utilizando tres dietas distintas; sardina, sardina y pienso, solo pienso (Skaramuka *et al.*, 2001).

En la década de los 90, varios autores realizaron estudios sobre el crecimiento de *Seriola dumerili* cuando es alimentada con pienso seco en tanques (García-Gómez y Díaz, 1995; González *et al.*, 1995; Jover *et al.*, 1999; Talbot *et al.*, 2000; Tomás, 2003), de los resultados obtenidos se desprende que su tasa de crecimiento puede alcanzar más de un kilo en el primer año.

Se ha investigado mucho la influencia que las distintas estrategias de alimentación tienen sobre parámetro como la tasa de crecimiento y la eficiencia alimenticia (A-Gomez *et al.*, 2005; Andaloro y Pipitone, 1997; Booth *et al.*, 2010; Booth *et al.*, 2013; Bowyer *et al.*, 2014; Dawood *et al.*, 2015; Takakuwa *et al.*, 2006), también existen trabajos que relacionan el crecimiento de *Seriola dumerili* con la cantidad de alimento proporcionado, la forma de hacerlo (automático o manual) y la frecuencia de tomas diarias, con el fin de encontrar la estrategia de alimentación más adecuada (Mazzola *et al.*, 2000; Watanabe *et al.*, 2001; Watanabe y Vassallo-Agius, 2003). Así por ejemplo, en el experimento realizado en el Centro Oceanográfico de Canarias de Santa Cruz de Tenerife, España, (Jerez *et al.*, 2009), con 220 ejemplares alimentados con pienso en

tanques en tierra y variando la cantidad de alimento suministrado (4, 3, 2.5 y 1.5% de la biomasa/día) y el número de veces al día en que se repartió el alimento (1 y 3 veces/día), observaron que para todas las raciones ensayadas, el SGR aumentaba al incrementar la frecuencia de alimentación, aunque estas diferencias solo fueron significativas cuando el alimento suministrado correspondía al 3% de la biomasa. Por otro lado, cuando sólo se les proporcionaba una toma al día los valores de SGR eran significativamente inferiores en las raciones más abundantes (3 y 4 % de la biomasa), pero estas diferencias se aprecian menos con la frecuencia de 2 veces/día y no se dieron cuando se alimentó 3 veces/día. También se comprobó que el empleo de la mayor ración de alimento (4 % de la biomasa) no se tradujo en valores superiores de SGR y combinado con bajas frecuencias dio lugar incluso a pérdidas de peso. Por otro lado, el Factor de Condición (K) se vio menos afectado que el SGR por los parámetros ensayados, los peces alimentados con la ración del 3% y la frecuencia de 2 veces/día mostraron un K significativamente mayor que el resto de los grupos, lo que podría reflejar mejores condiciones de cultivo, tal como apunta Ellis et al. (2002) en trucha, donde el K refleja el grado de estrés asociado a la gestión del cultivo. En resumen, este trabajo concluyó que el mejor protocolo de alimentación para obtener un mayor crecimiento consistente en suministrar el alimento de 2 ó 3 veces al día, en una cantidad correspondiente al 3% de la biomasa (Jerez *et al.*, 2009).

En otras especies también se ha mostrado que una mayor frecuencia de alimentación influye de forma positiva en el crecimiento de los peces, dándoles la oportunidad de consumir y digerir mas alimento a lo largo del día, aumentando considerablemente el tiempo de digestión e incrementando la eficiencia y la asimilación de nutrientes. Sin embargo, este efecto positivo alcanza un valor optimo que se relaciona con la máxima cantidad de alimento que el pez es capaz de consumir (Groat, 2002). Una cantidad de alimento superior a la óptima origina tan solo una ganancia de peso insignificante (Tsevis et al., 1992), mientras que una ración inferior puede aumentar la heterogeneidad del grupo, favoreciendo la competitividad por el alimento (Johansen y Jobling, 1998). En especies como la tilapia, frecuencias de alimentación de 2-3 veces/día son suficiente para maximizar el crecimiento (Riche et al., 2004).

Otro aspecto sobre el que se ha investigado muy activamente en los últimos años, es sobre las serias patologías que presenta la *Seriola dumerili* (Montero *et al.*, 2005) y que dificultan enormemente una producción satisfactoria. Tanto la presencia de hongos como el *Ichthyophonus hoferi* que produjo una mortalidad del 23% en las primeras

empresas que se dedicaron al cultivo de la especie (Navarro *et al.*, 1987), como de virus y bacterias (Alcaide *et al.*, 2000, Alcaide, 2003), provocan bajas considerables en la producción de esta especie, pero las principales causas de mortalidad masivas se deben a ciertos parásitos como *Paradeontacylix* sp., que en Mallorca provocó la muerte del 80% de los peces infectados (Grau *et al.*, 1999), *Zeuxapta seriolae* (Montero, 2001; Montero *et al.*, 2000; Montero *et al.*, 2001; Montero *et al.*, 2004; Montero *et al.*, 2005; Repulles *et al.*, 2005;) y *Cryptocaryon irritans*, que provocó una mortalidad del 100% en *Seriolas* cultivadas en Creta (Grecia) (Rigos *et al.*, 2001) o mortalidades masivas en las instalaciones del Centro Oceanográfico de Murcia (IEO) (De la Gándara *et al.*, 2004).

La limpieza de los tanques ayuda a evitar la proliferación de bacterias, la alimentación con pienso a disminuir el número de parásitos, pero ninguno de los tratamientos empleados para evitar la mortalidad producidas por *Zeuxapta seriolae* (mebendazol, formalina, peróxido de hidrógeno, sulfato de cobre, aceite de clavo) ha dado resultados definitivos, sólo baños periódicos de formol (300 ppm durante una hora, una o dos veces al mes) han podido evitar sus efectos nocivos, aunque no erradicarlo (De la Gándara *et al.*, 2002). Por su parte, baños de sulfato de cobre propuestos para el *Cryptocaryon irritans* (Rigos *et al.*, 2001) tienen una eficacia prácticamente nula cuando se produce un brote agudo. Los únicos tratamientos definitivos son la reducción de la salinidad del agua de mar (por debajo de 20 por mil) (Ahuir *et al.*, 2004), inviable en la *Seriola dumerili* incapaz de sobrevivir en un medio hiposalino (Rigos *et al.*, 2001) y de la temperatura (por debajo de los 20°C) (De la Gándara *et al.*, 2005). Los últimos estudios parecen indicar que la única solución posible en la lucha contra este parásito puede encontrarse en el desarrollo de una vacuna, ya que los peces que logran sobrevivir al contacto con *Cryptocaryon irritans* ofrecen una mayor resistencia a un nuevo contagio (De la Gándara *et al.*, 2005).

También se ha estudiado el efecto que las distintas estrategias de alimentación provoca en factores hematológicos relacionados con el estrés y diversas patologías (Dawood *et al.*, 2015; Kato *et al.*, 2011). Los resultados de un trabajo presentado en el XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid 2009 (Jerez *et al.*, 2009), indicaron que una sola toma diaria, especialmente cuando se combina con cantidades elevadas de alimento, provoca en los alevines de *Seriola dumerili* mayores niveles de glucosa, triglicéridos y aminotransferasas en el plasma sanguíneo, lo que se relaciona con situaciones de estrés (Sandnes *et al.*, 1988; Boeuf, 1993; Wendelaar Bonga, 1997;

Pottinger y Carrick, 1999), dando lugar a menores índices de crecimiento. Sin embargo este estudio no encontró diferencias entre los valores de cortisol plasmático de los distintos grupos, parámetro también utilizado generalmente como indicador del nivel de estrés (Pottinger y Carrick, 1999; Wendelaar Bonga, 1997), esto puede deberse a que dichos valores se elevan ante una situación de estrés agudo pero vuelven a la normalidad transcurrido un tiempo aunque la causa del estrés persista (Pickering, 1981), por tanto niveles bajos no significan ausencia de estrés (Hontela *et al.*, 1992). Este mismo estudio indica también que los peces alimentados una vez al día con el 3-4 % de la biomasa presentan valores de hematocrito, hemoglobina y nº de eritrocitos que apuntan a un estado anémico, estos parámetros sanguíneos se ven afectados por malas estrategias de alimentación (Lim y Klesius, 2003).

3- OBJETIVOS

Estudiar cómo afecta la estrategia de alimentación seguida al crecimiento de la *Seriola dumerili* analizando el índice específico de crecimiento diario SGR (Specific Grow Rate) (Priede y Secomber 1988), el factor de conversión de alimento FCR (Feed Conversion Rate) y el factor de condición mediante el índice de Fulton (Ricker 1975). Así mismo, se estudiará las consecuencias que los distintos protocolos utilizados tienen en diversos factores hematológicos relacionados con el estrés y otras patologías como son: las proteínas, el colesterol, la glucosa, los triglicéridos, la fosfatasa alcalina, la glutamato oxalacetato transaminasa (GOT), el lactato deshidrogenasa y la lipasa contenidas en el plasma y sobre la peroxidasa y la lisozima, factores inmunológicos, contenidos en el suero sanguíneo.

El presente trabajo pertenece al proyecto del 7º Programa Marco Europeo DIVERSIFY "Exploring the biological and socio-economic potential of new/emerging candidate fish species for the expansion of the European aquaculture industry" Proyecto numero 603121.

4- MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento consistió en estudiar cómo afecta el uso de distintas estrategias de alimentación al crecimiento y bienestar de 600 ejemplares de *Seriola dumerili* nacidos en las instalaciones del Parque Científico Tecnológico Marino (PCTM) de Taliarte, de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y mantenidos en 24 tanques a razón de 25 peces por tanque durante cuatro meses.

Para ver la evolución en su crecimiento se realizó una toma de datos al inicio del experimento (M0), anotando el peso en gramos de cada ejemplar, su longitud en

centímetros sin medir la aleta caudal (Talla furcal) y su longitud total incluyendo la aleta caudal (Talla T). Estos mismos parámetros se midieron en los cuatro muestreos posteriores (M1, M2, M3 y M4). Los índices calculados por cada tanque para cuantificar el crecimiento fueron:

- La media aritmética de los pesos y las desviaciones típicas correspondientes.
- La media aritmética de la talla furcal de los peces y de la talla total, con las desviaciones típicas correspondientes.
- Factor de condición, calculado mediante el índice de Fulton (Ricker 1975), tomando el peso medio y la longitud media, sin tener en cuenta la aleta caudal, la talla figura al cubo al ser una medida lineal (una dimensión) frente al peso que es espacial (tres dimensiones):

$$K = \frac{\text{Peso medio}}{(\text{Talla furcal media})^3} \cdot 100$$

- Índice específico de crecimiento diario SGR (Specific Grow Rate):

$$SGR = \frac{\ln(\text{Peso final}) - \ln(\text{Peso inicial})}{n^{\circ} \text{ de días}} \cdot 100$$

- Factor de conversión de alimento FCR (Feed Conversion Rate):

$$FCR = \frac{\text{Cantidad de pienso consumido}}{\text{Cantidad de peso ganado}}$$

- Biomasa, suma de todos los pesos de los medregales que contiene un tanque.
- Incremento de biomasa de cada muestreo como diferencia entre la biomasa actual y la biomasa inicial.

Para valorar como afectan los distintos protocolos de alimentación a la salud de los medregales, se estudió el efecto que estos provocan sobre los niveles en sangre de los peces, de ciertas enzimas, azúcares etc, relacionadas con diversas patologías.

Por ejemplo, la medición de los niveles de enzimas en el plasma sanguíneo constituye una herramienta eficaz en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades, ya que un daño en la pared celular o la muerte de la célula provoca que las enzimas pasen al torrente sanguíneo (Varas, 2012). Algunas de las causas de daño o muerte celular son: Hipoxia o falta de oxígeno, puede deberse a la deficiencia en el transporte del oxígeno como sucede en las anemias; Presencia de microorganismos (bacterias, parásitos, virus) pues atacan a la membrana celular provocando la salida de enzimas intracelulares a la circulación sanguínea y Trastornos nutricionales

La utilización de las enzimas en el diagnóstico clínico depende de su vida media después de su salida del interior de la célula. La vida media de las enzimas en el plasma varía de 6 a 48 h. Las enzimas estudiadas en el plasma en el presente trabajo son:

- Lactato deshidrogenasa (LDH). Niveles elevados se observan en muchas circunstancias como anemias megaloblásticas, infarto de miocardio y pulmonar, etc. Vida media 113 ± 60 horas.
- Glutamato oxalacetato transaminasa (GOT). Transaminasa hepática elevada en enfermedades hepatobiliares, cardiovasculares y miopatía. Vida media 17 ± 5 horas.
- Fosfatasa alcalina (ALP), se encuentra aumentada en las enfermedades hepáticas, también es útil para reconocer las enfermedades óseas. Vida media entre 3 y 7 días.
- Lipasa, relacionada con enfermedades del páncreas. Vida media entre 3 y 6 horas.

Por otro lado el estrés en los peces provoca un incremento en los niveles de cortisol y catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) en el plasma sanguíneo, hormonas que producen un aumento de glucosa y de lactato deshidrogenas, otros estudios también relacionan niveles altos de glucosa, triglicéridos y aminotransferasas en el plasma sanguíneo con situaciones de estrés (Sandnes *et al.*, 1988; Boeuf, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Pottinger y Carrick, 1999), dando lugar a menores índices de crecimiento, de la tasa reproductiva, de la resistencia inmunitaria y de la supervivencia de la población (Barandica, 2010). Por su parte, una disminución de la concentración de proteínas totales reflejaría deficiencias nutricionales.

El encargado de realizar estos análisis en las muestras que les proporcionamos, fue el laboratorio Animal Lab.

Por último, en el suero se midió los niveles de lisozima y peroxidasa, cuyos valores se relacionan con la salud de los peces, ya que la lisozima es una enzima hidrolítica capaz de destruir las paredes celulares de ciertas bacterias gram+, como son los micrococcos, y de algunas gram-, lo que le confiere un papel inmunológico importante al provocar la lisis de las bacterias e impedir así una invasión bacteriana (Luque, 1997).

La peroxidasa, por su parte, es una enzima que cataliza reacciones redox, utilizando un peróxido como oxidante (a lo que deben su nombre), generalmente H_2O_2 y un segundo sustrato de características reductoras que es oxidado por el peróxido. Tiene una función defensiva donde se aprovecha el carácter oxidante del peróxido con fines

germicidas y bactericidas, también protege frente al estrés oxidativo, que si es agudo puede causar la muerte celular. La alteración de su actividad enzimática provoca un aumento del peróxido, lo que puede ser fatal para la célula y aún más para el organismo, por lo cual esta alteración se encuentra implicada en numerosas enfermedades y procesos fisiológicos (Cisneros *et al.*, 1996).

Estos análisis se realizaron en el laboratorio SABE del Instituto ECOAQUA de la ULPGC.

4.1 Cronograma

A continuación se muestra una tabla donde se indica la temporalización de las tareas realizadas, que de forma esquemática fueron:

- 1 – M0 - Muestreo inicial. Comienzo del experimento.
- 2 – Protocolo de alimentación siguiendo las distintas pautas establecidas.
- 3 – Recogida, secado y pesado del pienso sobrante de cada tanque. Recuento de bajas
- 4 – Mantenimiento y limpieza de los tanques.
- 5 – M1, M2, M3 - Muestras de seguimiento 1, 2 y 3.
- 6 – M4 - Muestreo final.
- 7 – Análisis, en el centro, de las muestras recogidas.
- 8 – Recopilación y análisis de datos.

Cada cuadrícula corresponde a una semana, perteneciente aproximadamente al mes indicado, a contar desde el día de inicio del experimento, lunes 16 de noviembre de 2015.

	Nov.	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
1	17					
2						
3						
4						
5		17	18	17		
6					15-16	
7						
8						

- Corresponden a tareas puntuales realizadas los días indicados.
- Corresponde a tareas diarias realizadas durante las semanas señaladas, excepto los domingos.
- Corresponde a tareas realizadas al menos una vez por semana

4.2 M0 – Muestreo inicial. Comienzo del experimento

El 17 de noviembre de 2015, se pesaron y midieron, incluyendo y sin incluir la aleta caudal, los 600 peces que formaban parte del experimento. Para ello se anestesiaron primero introduciéndolos en un tanque pequeño que contenía aceite de clavo, previamente diluido al 50% en etanol al 96% ya que el aceite de clavo es insoluble en

agua (García-Gómez *et al.* 2011). Seguidamente pasaron por un proceso de desparasitación, que incluía baños con agua dulce pues como ya he citado la disminución de la salinidad ayuda a combatir *Cryptocaryon irritans*, y por último de les distribuyó, a razón de 25 peces por tanque, en 24 tanques de 0.5 m³ a una temperatura de 21.10±1.44°C, un pH de 8.13±0.03 y un 3.5% de salinidad, ubicados en la estación de selección (Warm Water Species Selection Unit, WWSSU) del Parque Científico Tecnológico Marino de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (imagen 1).

Dichos tanques se encontraban numerados (imagen 2) del 39 al 64 (excepto el 51 y 52, que actualmente no estaban en funcionamiento) y todos estaban equipados con alimentadores automáticos, control automático de fotoperiodo y renovación, y sondas para el control de temperatura, oxígeno y pH.



Imagen 1: Tanques de 0.5 m³



Imagen 2: Numeración tanques

4.3 Protocolo de alimentación.

El alimento utilizado en todos los casos fue pienso comercial R-5 EUROPA 22%, compuesto fundamentalmente por harina de pescado, gluten de trigo, aceite de pescado y almidón de guisante.

Se diseñaron 8 estrategias distintas de alimentación, una por cada tres tanques (tabla 1), atendiendo a los siguientes criterios:

- Número de tomas diaria (1, 3 o 4)
- Cantidad de alimento suministrado (a saciedad o en función de la biomasa de cada tanque)
- Método para suministrar el alimento (manual o automático)

MÉTODO	TRATAMIENTO	CANTIDAD	Nº. TOMAS	TANQUES
Manual	1	Saciedad	3	39 – 50 - 60
	2	Saciedad	1	40 – 49 - 59
Automático	3	3,5 % Biomasa	3	41 – 48 - 58
	4	3,5 % Biomasa	4	42 – 47 - 57
	5	3,5 % Biomasa	1	43 – 56 - 64
	6	2,5 % Biomasa	3	44 – 55 - 63
	7	2,5 % Biomasa	4	45 – 54 - 62
	8	2,5 % Biomasa	1	46 – 53 - 61

Tabla 1: Protocolos de alimentación, distribución tanques.

Los tanques correspondientes a los tratamientos 1 y 2 fueron alimentados diariamente a saciedad, para ello todos los días a las 8:30 se pesaron 6 botes de pienso, etiquetados uno por cada tanque, y se les suministraba pienso hasta que los peces perdían interés por la comida. La capacidad de los botes era de 300g y se rellenaban conforme se agotaba el pienso, recogiendo todos los datos en un cuaderno. A continuación, se retiraban los botes de los tanques 40, 49 y 59 (tratamiento 2) pues a estos solo les correspondía una toma diaria y se repetía el proceso a las 11:30 y a las 14:00 en los tanques 39, 50 y 60 (tratamiento 1) (sin pesar esta vez el contenido del bote, pues se toma el consumo diario). Para este proceso es obligatorio el uso de guantes de látex y de botas de goma, enjuagando la suela en agua con lejía antes de entrar a la sala, para evitar en la medida de lo posible contaminar el pienso y el entorno.

Los 18 tanques restantes se alimentaron de forma automática por medio de dispensadores dirigidos por ordenador y programados para suministrar siempre la cantidad exacta de pienso, según el porcentaje de biomasa asignado a cada tanque (3.5% tratamientos 3, 4, 5 y 2.5% tratamientos 6, 7 y 8) y que eran reprogramados después de cada muestreo. Además, se fijaron las horas de los dispensadores para hacer coincidir la toma con las que se realizaban manualmente (8:30, 11:30 y 14:00, además de una cuarta toma a las 12:30 para los tratamientos 4 y 7). Todos los tanques independientemente del tratamiento al que pertenecieran fueron alimentados todos los días de la semana excepto los domingos.

4.4 Recogida del pienso sobrante de cada tanque. Recuento de bajas.

Para saber la cantidad de pienso que los peces de cada tanque no consumen y restárselo a la cantidad que se les suministra, todos los días al final de la jornada se

preparaban 24 bandejas de aluminio etiquetadas una por tanque y se colocaban en las tuberías cerca del desagüe de los tanques. Con un colador de red de malla fina se filtraba el agua y se recogía el pienso sobrante, que se vertía en la bandeja correspondiente procurando poner la menor cantidad de agua posible y se metía en la estufa para deshidratarlo. Para recuperar todo el pienso de la tubería es necesario abrir y cerrar la llave varias veces, con cuidado para no derramar el recogido en el colador.

Al día siguiente a primera hora, después de dar la primera toma a los medregales, se sacaban las bandejas de la estufa y se pesaba el pienso que contenían, obteniendo así el peso de pienso seco sobrante de cada tanque, estos datos se anotaron en el cuaderno. El pienso una vez pesado se desecha al contenedor de basura orgánica.

También en este proceso es necesario el uso de guantes (que tras su uso se depositaban en un contenedor para sustancias químicas) y botas por cuestiones higiénicas.

Todos los días se revisaban los tanques, por dentro y por fuera, para retirar las bajas, anotando en el cuaderno de trabajo (imagen 3) el tanque a que pertenecía y su peso.

Fecha 17/02/16

T₃₉ = 72 g → 300 g T₄₀ = 210 g
 T₄₉ = 180 g T₅₀ = 237 g
 T₅₉ = 228 g T₆₀ = 81 g → 300 g

Bajas
 T₄₁ = 110 g T₅₇ = 130 g
 T₄₁ = 95 g

Peso seco sobrante
 T₃₉ = 28.3 g T₄₅ = 17.0 g T₅₃ = 71.5 g T₅₉ = 15.7 g
 T₄₀ = 54.6 g T₄₆ = 37.2 g T₅₄ = 65.4 g T₆₀ = 19.9 g
 T₄₁ = 35.1 g T₄₇ = 14.0 g T₅₅ = 28.7 g T₆₁ = 43.6 g
 T₄₂ = 61.2 g T₄₈ = 25.4 g T₅₆ = 33.5 g T₆₂ = 41.3 g
 T₄₃ = 17.6 g T₄₉ = 48.5 g T₅₇ = 19.6 g T₆₃ = 16.7 g
 T₄₄ = 28.3 g T₅₀ = 72.0 g T₅₈ = 46.5 g T₆₄ = 23.8 g

Imagen 3: Anotaciones diarias en el cuaderno de trabajo

4.5 Mantenimiento y limpieza de los tanques.

A diario se revisaba el estado de la planta de selección y se realizaban las labores necesarias para su limpieza y mantenimiento, por ejemplo: ajuste con pinzas de las redes situadas en la parte superior de los tanques para que los peces no salten, limpieza del pienso acumulado en los bordes de los tanques, recolocación de los tubos de oxigenación de los tanques en caso de que estuviesen sueltos, revisión de las llaves que

controlan la entrada y salida de agua, así como de oxígeno, barrido del pienso que cae al suelo en la zona de trabajo, limpieza del suelo con manguera en caso necesario, etc.

4.6 M1, M2, M3 - Muestreos de seguimiento 1, 2 y 3.

A lo largo del experimento se realizaron 3 muestreos de seguimiento los días 17 de diciembre de 2015 (M1), 18 de enero de 2016 (M2) y 17 de febrero de 2016 (M3). En ellos se llevó a cabo un conteo de los peces, pues aunque en un principio en todos había 25 piezas el número se reducía debido a las bajas producidas, y se medían los mismos parámetros indicados en el M0; peso, talla furcal y talla total. Para ello se sacaban todos los peces de cada tanque y se introducían en uno menor para anestésarlos, después de tomar las medidas necesarias se les sometía a una desparasitación y por último se devolvían al tanque correspondiente.

Después de cada muestreo, se ajustaban los dosificadores de comida de los 18 tanques alimentados automáticamente, con los datos de la biomasa obtenidos.

4.7 M4 - Muestreo final.

En el cuarto y último muestreo, M4, se realizó durante los días 15 y 16 de Marzo de 2016, se escogieron al azar nueve peces de cada uno de los 24 tanques disponibles, que fueron sometidos a una sobredosis de anestesia. Una vez sacrificados con los métodos estandarizados y aprobados por el comité de bioética de la ULPGC, se pesaron y midieron y se utilizaron para realizar con ellos distintos estudios; tres para bioquímica de pez entero, estos se guardaron en un congelador -20°C para homogeneizar posteriormente al pez entero (triturándolos) y medir entre otras cosas la concentración de lípidos; otros tres se utilizarían para bioquímica de músculo hígado e intestino y los tres últimos para histología de intestino, hígado y piel para inmunohistoquímica. Previamente a la sobredosis de anestesia a seis de estos peces, excluidos los de bioquímica de pez entero, se les extrajo dos muestras de sangre que se depositaron en tubos Eppendorf, uno conteniendo heparina para evitar la coagulación y otro sin ella.

Las muestras que contenía el anticoagulante, se centrifugaron a 3000 r.p.m durante 5 minutos para separar el plasma sanguíneo de la fracción celular (imagen 4). Dicho plasma se envió al laboratorio Animal Lab., en estas muestras se midieron los niveles de colesterol, glucosa, triglicéridos, proteínas totales, fosfatasa alcalina (ALP), glutamato oxalacetato transaminasa (GOT), lactato deshidrogenasa (LDH) y lipasa, relacionados en numerosos estudios con el estrés y diversas patologías.

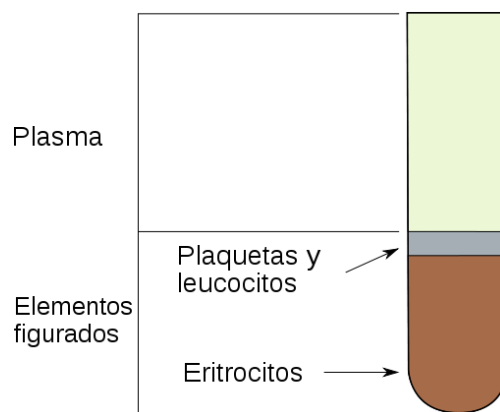


Imagen 4: Composición sanguínea

Los otros Eppendorf se destinaron a análisis de parámetros inmunológicos, como son la lisozima y la peroxidasa, para lo cual se conservaron en una nevera a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Estas pruebas se realizaron en el centro.

El resto de peces, después de pesarlos, medirlos y desparasitarlos, se devolvieron a sus tanques a la espera de utilizarlos en futuros proyectos ajenos al presentado en este trabajo.

4.8 Análisis en el centro de las muestras recogidas.

Una vez tomadas las muestras de sangre destinadas al tratamiento del suero de cada pez, se trabajó con ellas en el laboratorio al día siguiente. Después de descongelarlas, se centrifugaron a 5000 rpm durante 5 minutos y mediante una pipeta se extrajo el sobrenadante, en este caso correspondiente al suero sanguíneo ya que al no contener el Eppendorf heparina se habían eliminado los factores coagulantes como el fibrinógeno, proteína soluble en el plasma y responsable de la coagulación sanguínea. Este se guardó en un nuevo Eppendorf convenientemente etiquetado y se dejó unos minutos en reposo, transcurridos estos se repitió el proceso con el fin de obtener suero lo más puro posible para evitar que trazas de elementos formes de la sangre interfiriesen en los análisis posteriores.

En el suero obtenido se midió la actividad de dos enzimas, la lisozima y la peroxidasa cuyos valores se relacionan con la salud de los peces.

El método utilizado para medir la concentración de lisozima (Rotllant et al., 1997) se basa en el descenso de los valores de absorbancia debido a la lisis de micrococos por la acción de dicha enzima (a mayor concentración de lisozima, menor concentración de micrococos y por tanto menor absorbancia y mejor actividad del sistema inmune), la lectura se realiza en un espectrofotómetro a 620 nm.

El método utilizado para la determinación de la concentración de esta enzima en el suero sanguíneo (Quade y Roth, 1997) se basa en medir en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm las distintas absorbancias que se obtienen por el cambio de coloración que sufre la muestra, debido al efecto blanqueante de la peroxidasa.

En ambos casos, todas las muestras se midieron por duplicado, siendo el valor utilizado el promedio de ambos.

4.9 Recopilación de datos

Durante el tiempo que duró el experimento, semanalmente se trasladaban los datos recogidos en el cuaderno a una hoja de cálculo Excel con el fin de calcular la cantidad de pienso consumido en cada tanque. También después de cada muestreo se iban tabulando los datos necesarios para el cálculo de los distintos parámetros.

El estudio estadístico se realizó una vez concluido el experimento, para ello se utilizó el análisis de la varianza, ANOVA, seguido del test de Welch (al no existir homogeneidad de varianza), a un nivel de significación de $p < 0.05$.

5- RESUMEN DE LOS DATOS RECOPIRADOS

5.1 Mortalidad

Tras los cuatro meses que duró el experimento, la mortalidad alcanzó el 27%, resultando alarmante en dos tanques en concreto donde llegó al 72% al final de la experiencia por causas de fallo de la toma de agua y no debidas al protocolo experimental, siendo del 23% en los 22 tanques restantes. También es reseñable el hecho de que se disparase en el último mes, ya que en el tercer muestreo la mortalidad fue del 14%. No hubo diferencias en mortalidad entre tratamientos. Los peces de los dos tanques experimentales que sufrieron mortalidad por problemas en la toma de agua se valoraron en peso y talla, ya que esto ocurrió dos días antes del muestreo final.

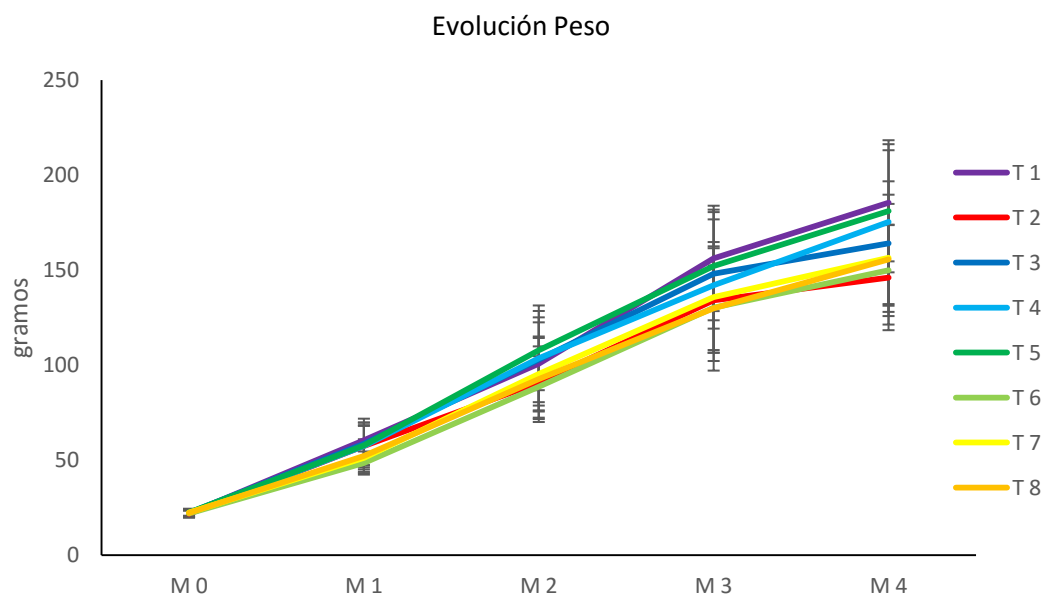
5.2 Parámetros nutricionales

5.2.1 Peso

La tabla 2 muestra la evolución del peso medio obtenido para cada uno de los tratamientos alimenticios seguidos y sus correspondientes desviaciones estándar. Diferentes letras en cada punto de muestreo significan diferencias significativas ($P < 0.05$). Estos datos se encuentran representados en la gráfica 1.

	Peso (gramos)				
	M0	M1	M2	M3	M4
T1	21.96 ± 1.79	60.51 ± 11.38a	100.69 ± 21.90a	156.24 ± 27.73a	185.51 ± 30.83a
T2	21.78 ± 1.73	57.38 ± 11.10a	90.81 ± 19.13ab	134.10 ± 27.50bc	146.11 ± 27.65 c
T3	22.16 ± 1.64	58.57 ± 11.31a	102.90 ± 22.31a	148.04 ± 28.75ab	164.08 ± 32.75b
T4	22.22 ± 1.65	57.50 ± 2.31a	103.58 ± 27.90a	142.08 ± 39.83abc	175.32 ± 43.11 ab
T5	22.47 ± 1.65	57.80 ± 10.28a	107.73 ± 20.84c	152.13 ± 28.46a	181.04 ± 32.13a
T6	21.93 ± 1.79	48.54 ± 6.08b	88.60 ± 16.18b	130.28 ± 22.27c	149.96 ± 24.07 c
T7	22.32 ± 2.00	51.23 ± 7.30b	95.32 ± 19.04abc	135.71 ± 29.14bc	156.51 ± 28.42 b
T8	22.14 ± 2.36	52.14 ± 8.92b	92.64 ± 22.50abc	129.90 ± 32.70bc	155.60 ± 34.1bc

Tabla 2: Peso medio por tratamiento y muestreo

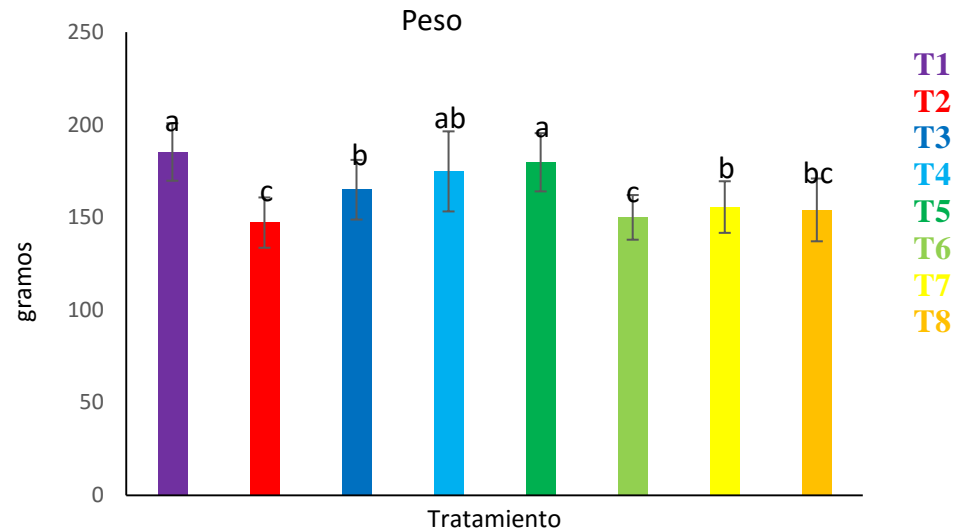


Gráfica 1: Peso medio por tratamiento y muestreo

La tabla 3 recoge el peso promedio según tratamiento en el muestreo final, los datos se representan en la gráfica 2

Alimentación	Peso (gramos)		
	1 toma	3 tomas	4 tomas
Saciedad	146.11 ± 27.65c	185.51 ± 30.83a	
3.5% Biomasa	181.04 ± 32.13a	164.08 ± 32.75b	175.32 ± 43.11ab
2.5% Biomasa	155.60 ± 34.17bc	149.96 ± 24.07c	156.51 ± 28.42b

Tabla 3: Pesos medios finales por tratamiento



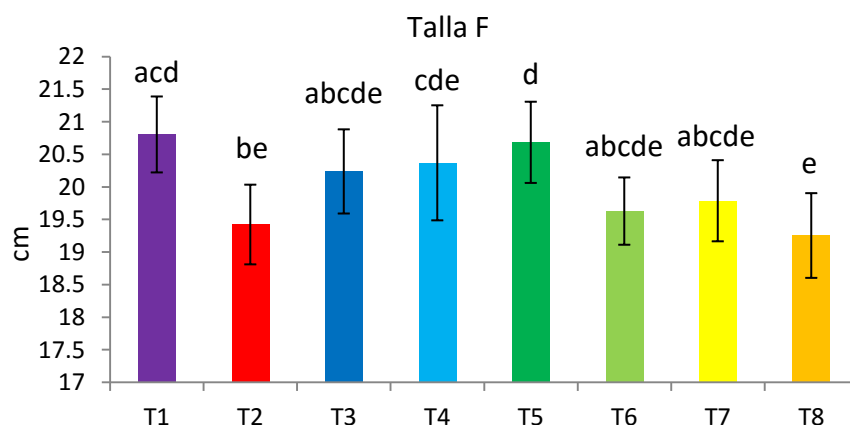
Gráfica 2: Pesos medios finales por tratamiento

5.2.2 Talla Furcal (Talla F).

En la siguiente tabla (tabla 4) se recogen los valores medios de la talla furcal para cada tratamiento y sus desviaciones estándar tomadas en el muestreo final, estos datos se encuentran representados en la gráfica 3.

Alimentación	Talla F (centímetros)		
	1 toma	3 tomas	4 tomas
Saciedad	19.423 ± 1.223 be	20.80 ± 1.165 acd	
3.5% Biomasa	20.684 ± 1.246d	20.238 ± 1.291 abcde	20.370 ± 1.765cde
2.5% Biomasa	19.254 ± 1.300e	19.629 ± 1.032abcde	19.784 ± 1.245 abcde

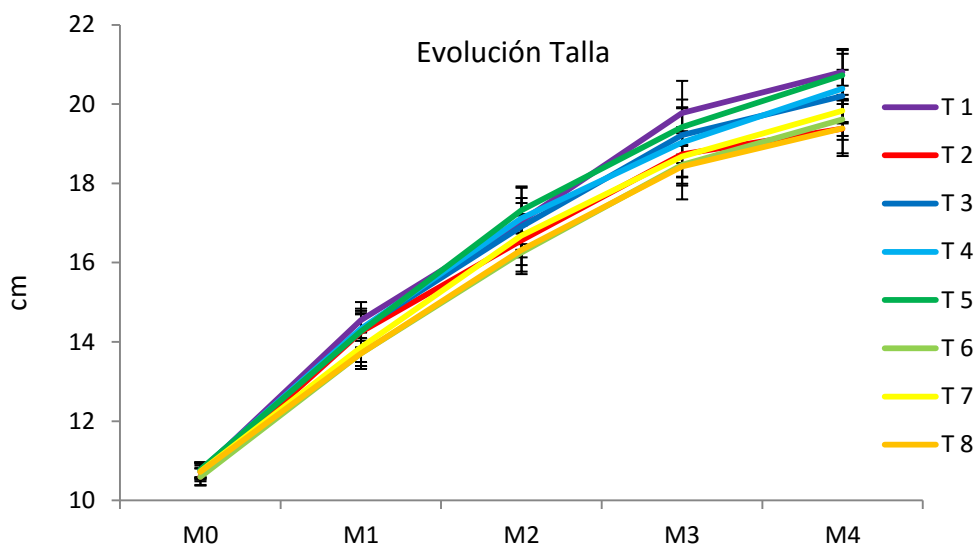
Tabla 4: Talla furcal media final por tratamiento



Gráfica 3: Talla furcal media final por tratamiento

Las letras a, b, c, d y e indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$).

La gráfica 4 muestra la evolución de la talla furcal a lo largo del experimento para cada uno de los tratamientos seguidos.



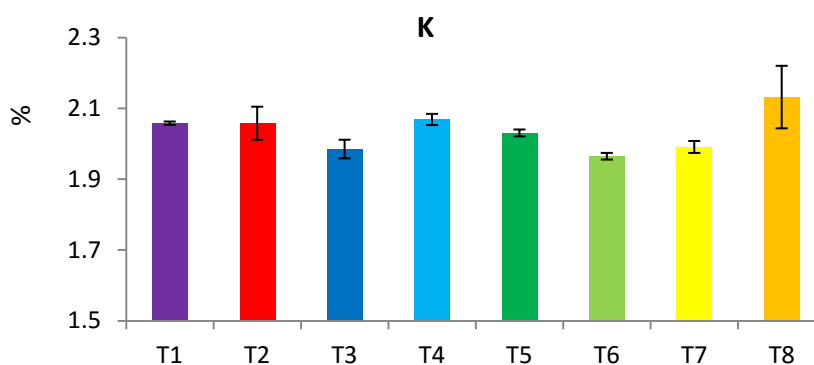
Gráfica 4: Talla furcal media por tratamiento y muestreo

5.2.3 Factor de condición (K).

Los datos promedio, para cada tratamiento, del factor de condición obtenido al finalizar el experimento, se reflejan en la tabla 5, incluyendo sus desviaciones estándar, la gráfica 5 corresponde a la representación de estos datos.

Alimentación	K		
	1 toma	3 tomas	4 tomas
Saciedad	2.058±0.094	2.058±0.010	
3.5% Biomasa	2.031±0.020	1.985±0.053	2.069±0.032
2.5% Biomasa	2.132±0.177	1.965±0.019	1.991±0.033

Tabla 5: Factor de condición medio final por tratamiento



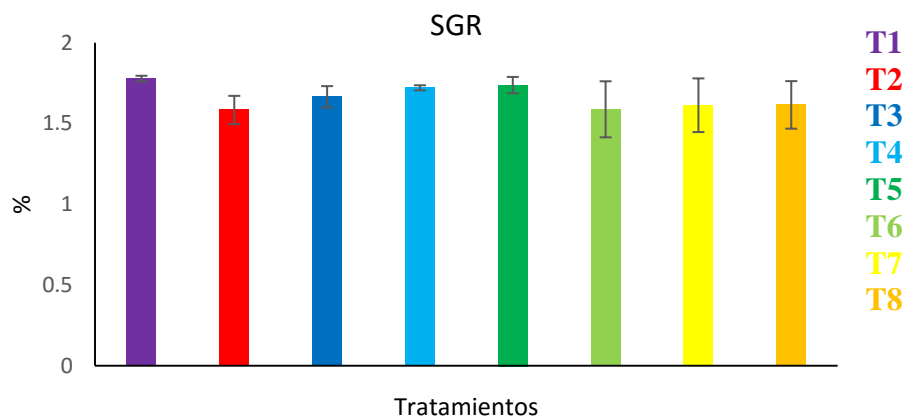
Gráfica 5: Factor de condición medio final por tratamiento

5.2.4 Índice específico de crecimiento diario SGR (Specific Grow Rate).

Los datos promedio del SGR para cada tratamiento, obtenidos al finalizar el experimento, incluyendo sus desviaciones estándar, se recogen en la tabla 6, y están representados en la gráfica 6.

Alimentación	SGR (% día ⁻¹)		
	1 toma	3 tomas	4 tomas
Saciedad	1.584±0.018	1.778±0.018	
3.5% Biomasa	1.738±0.050	1.666±0.066	1.721±0.016
2.5% Biomasa	1.615±0.147	1.588±0.173	1.613±0.166

Tabla 6: Índice específico de crecimiento final por tratamiento



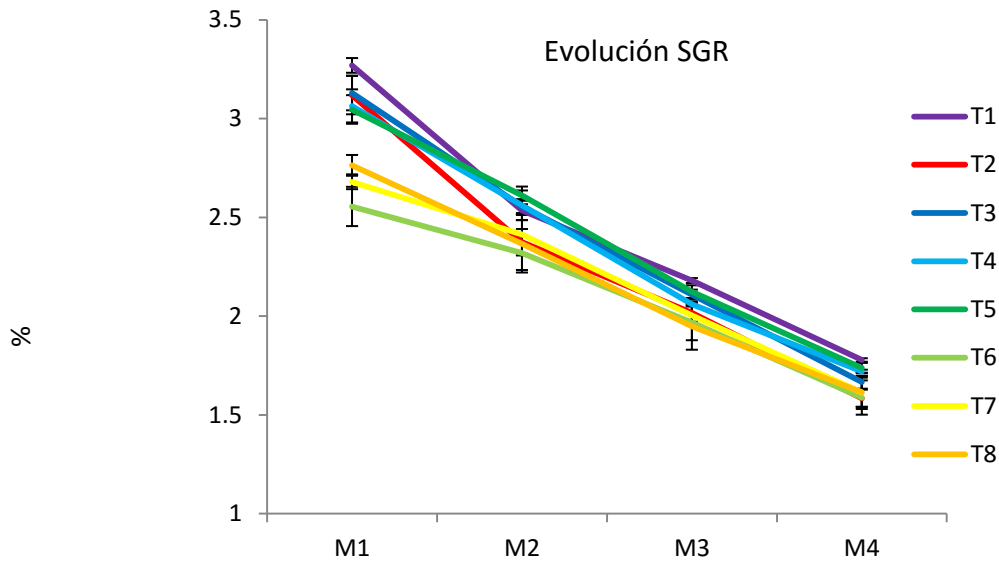
Gráfica 6: Índice específico de crecimiento final por tratamiento

Los valores obtenidos para el SGR, en cada uno de los distintos muestreos, con la desviación estándar correspondiente, se muestran en la tabla 7.

	SGR (% día ⁻¹)			
	M1	M2	M3	M4
T1	3.269 ± 0.074	2.535 ± 0.098	2.180 ± 0.025	1.778 ± 0.018
T2	3.119 ± 0.195	2.374 ± 0.134	2.016 ± 0.088	1.584 ± 0.088
T3	3.129 ± 0.175	2.557 ± 0.070	2.109 ± 0.050	1.666 ± 0.066
T4	3.064 ± 0.168	2.561 ± 0.150	2.061 ± 0.025	1.721 ± 0.016
T5	3.046 ± 0.145	2.611 ± 0.089	2.124 ± 0.064	1.738 ± 0.050
T6	2.555 ± 0.199	2.320 ± 0.173	1.968 ± 0.180	1.588 ± 0.173
T7	2.680 ± 0.075	2.414 ± 0.196	2.003 ± 0.098	1.613 ± 0.166
T8	2.763 ± 0.105	2.367 ± 0.292	1.948 ± 0.236	1.615 ± 0.147

Tabla 7: Índice específico de crecimiento por tratamiento y muestreo

La gráfica 7 muestra la evolución sufrida por la tasa de crecimiento diario en los distintos muestreos realizados



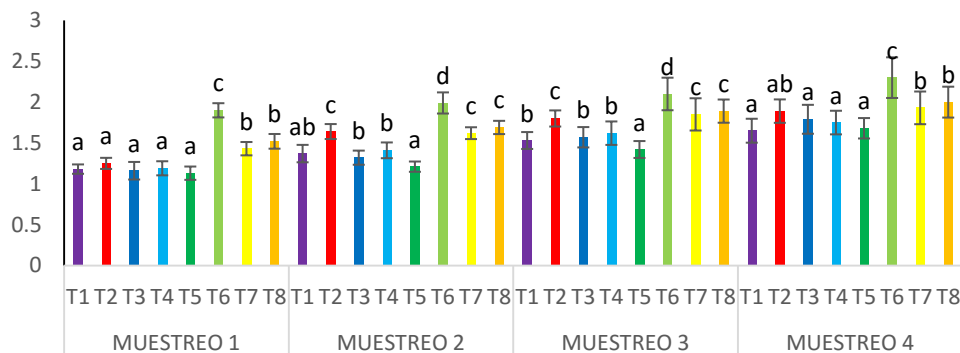
Gráfica 7: Índice específico de crecimiento por tratamiento y muestreo

5.2.5 Factor de conversión de alimento FCR (Feed Conversion Rate)

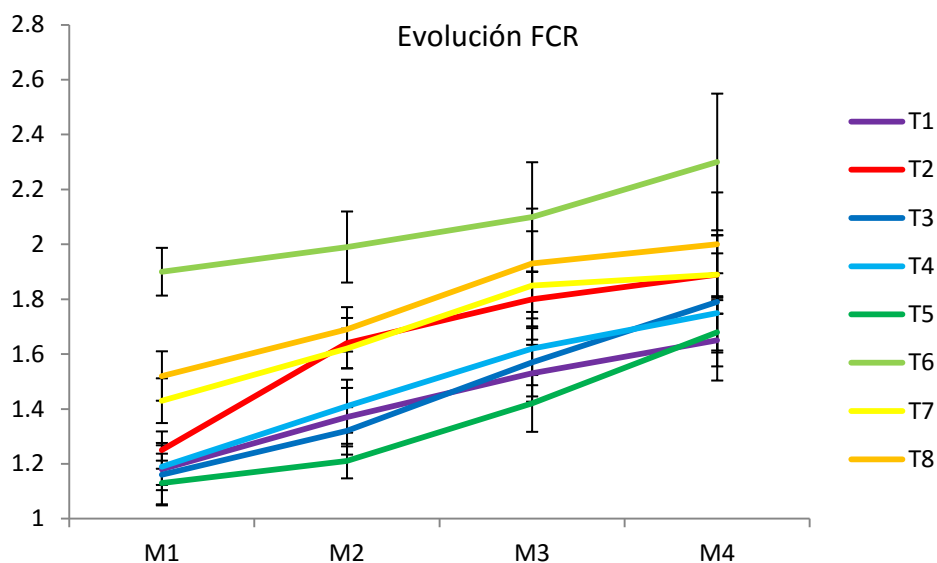
Los valores obtenidos de FCR con sus desviaciones estándar se presentan en la tabla 8 y se representan en la gráfica 8, donde letras diferentes para cada muestreo denotan diferencias significativas ($P < 0.05$)

FCR				
	M1	M2	M3	M4
T1	1.180 ± 0.114a	1.37 ± 0.213 ab	1.53 ± 0.207 b	1.65 ± 0.293 a
T2	1.250 ± 0.136 a	1.64 ± 0.183 c	1.8 ± 0.198 c	1.89 ± 0.287 ab
T3	1.160 ± 0.215 a	1.32 ± 0.173 b	1.57 ± 0.249 b	1.79 ± 0.354 a
T4	1.190 ± 0.172a	1.41 ± 0.193 b	1.62 ± 0.267 b	1.75 ± 0.289 a
T5	1.130 ± 0.163a	1.21 ± 0.126 a	1.42 ± 0.207 a	1.68 ± 0.25 a
T6	1.900 ± 0.174c	1.99 ± 0.259 d	2.10 ± 0.398 d	2.30 ± 0.498 c
T7	1.430 ± 0.163 b	1.62 ± 0.145 c	1.85 ± 0.395 c	1.89 ± 0.285 c
T8	1.520 ± 0.180 b	1.69 ± 0.162 c	1.93 ± 0.400 b	2.00 ± 0.378 b

Tabla 8: Factor de conversión de alimento por tratamiento y muestreo



Gráfica 8: Factor de conversión de alimento por tratamiento y muestreo



Gráfica 9: Factor de conversión de alimento por tratamiento y muestreo

5.3 Parámetros hematológicos del plasma.

Los resultados enviados por el laboratorio Animal Lab para las muestras proporcionadas, se resumen en las tablas 9, 10 y 11. También se incluyen todas las gráficas obtenidas (gráficas 10 a 15). Se describen primero las abreviaturas utilizadas.

ALP – Fosfatasa alcalina

GOT – Glutamato oxalacetato transaminasa

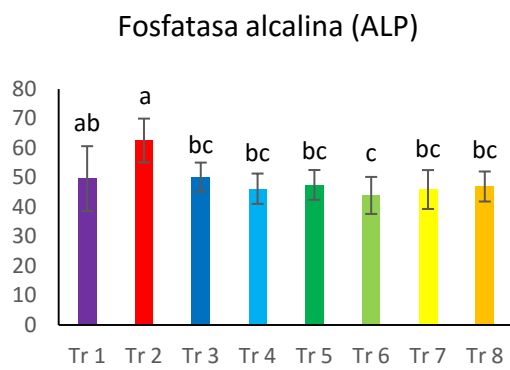
LDH – Lactato deshidrogenasa

Media – Media aritmética de los valores obtenidos para cada tratamiento.

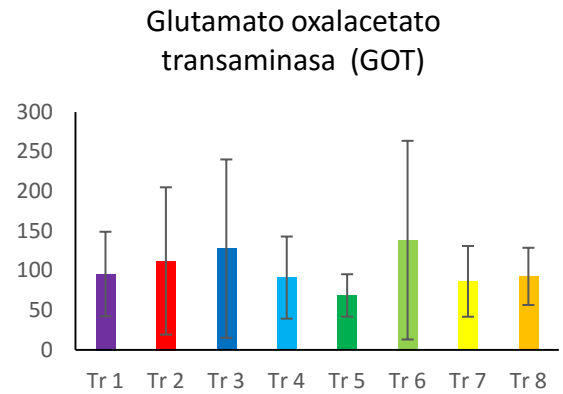
Desv. Est. – Desviación Estándar

	ALP (U/L)	GOT (U/L)	LDH (U/L)	Lipasa (U/L)
T 1	49.61 ± 21.94ab	95.75 ± 106.53	672.18 ± 793.49	177.41 ± 96.09
T 2	62.49 ± 14.89a	112.18 ± 185.68	755.00 ± 744.37	94.14 ± 120.20
T 3	50.09 ± 9.85bc	127.71 ± 224.91	626.17 ± 599.58	216.16 ± 28.86
T 4	46.16 ± 10.27bc	91.22 ± 103.53	494.22 ± 514.63	227.93 ± 23.12
T 5	47.45 ± 10.11bc	68.72 ± 53.45	673.17 ± 804.50	183.28 ± 93.11
T 6	43.88 ± 12.56c	138.42 ± 250.50	402.67 ± 535.26	230.18 ± 27.95
T 7	45.88 ± 13.18bc	86.50 ± 89.19	504.42 ± 629.57	225.50 ± 31.86
T 8	46.91 ± 10.19bc	92.72 ± 72.13	1026.56 ± 1094.52	-----

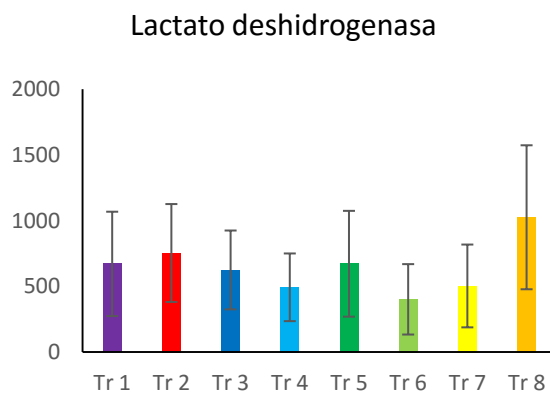
Tabla 9: Concentraciones finales enzimas del plasma por tratamiento



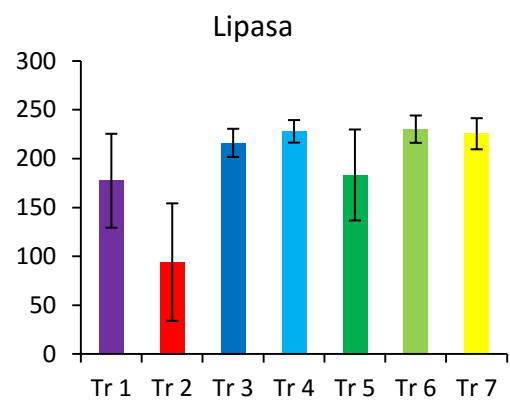
Gráfica 10: Concentración final por tratamiento



Gráfica 11: Concentración final por tratamiento



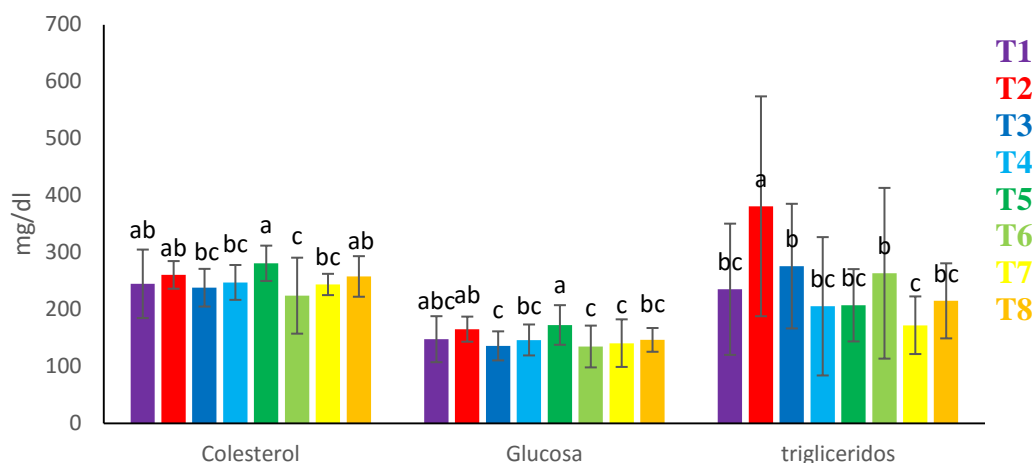
Gráfica 12: Concentración final por tratamiento



Gráfica 13: Concentración final por tratamiento

	Colesterol (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)
T 1	244.889 ± 60.108ab	147.667 ± 40.386abc	235.333 ± 115.193bc
T 2	260.545 ± 24.300ab	165.273 ± 22.041ab	381.000 ± 193.028a
T 3	238.056 ± 33.084bc	135.944 ± 25.487c	276.000 ± 109.405b
T 4	247.333 ± 30.598bc	146.333 ± 27.164bc	205.444 ± 121.458bc
T 5	280.944 ± 31.002a	172.611 ± 34.789a	207.222 ± 63.488bc
T 6	224.083 ± 66.699c	134.833 ± 36.685c	263.417 ± 149.866b
T 7	243.75 ± 18.685bc	140.750 ± 41.759c	172.167 ± 50.575c
T 8	257.833 ± 35.624ab	146.444 ± 20.884bc	215.000 ± 65.914bc

Tabla 10: Concentraciones medias finales de distintos parámetros del plasma por tratamiento



Gráfica 14: Concentraciones medias finales por tratamiento

	Proteínas totales (g/dl)
T 1	3.66 ± 0.56
T 2	3.88 ± 0.33
T 3	4.13 ± 0.71
T 4	4.12 ± 0.40
T 5	4.17 ± 0.33
T 6	3.73 ± 0.63
T 7	4.11 ± 0.23
T 8	4.01 ± 0.31

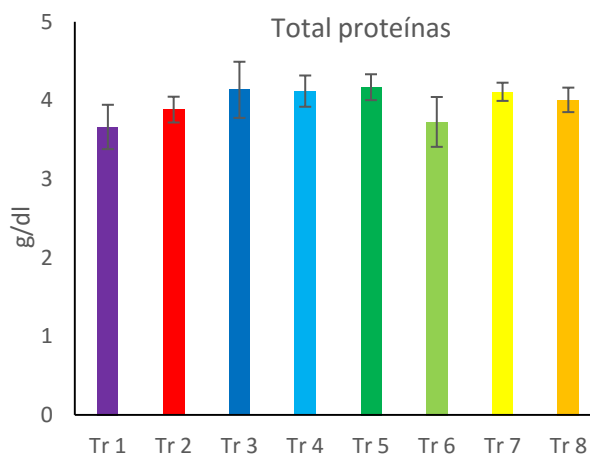


Tabla 11: Concentración final proteínas

Gráfica 15: Concentración final proteínas

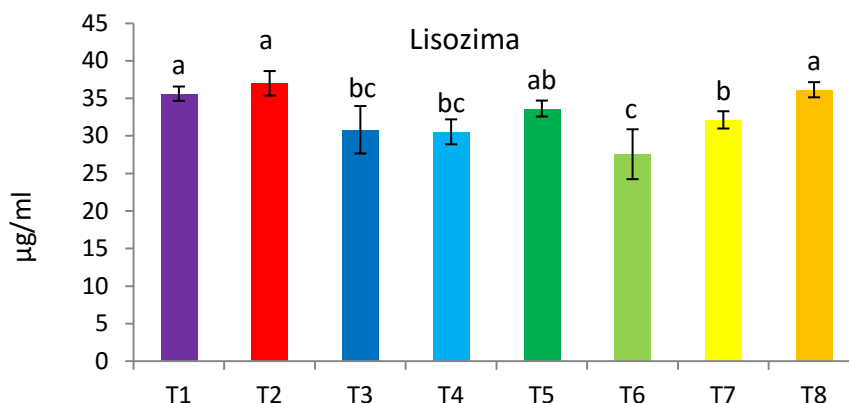
5.4 Parámetros hematológicos del suero.

Los principales datos sobre los niveles de lisozima y peroxidasa medidos en las muestras analizadas y resumidas para cada tratamiento, con sus desviaciones estándar correspondientes, se recogen en la tabla 12.

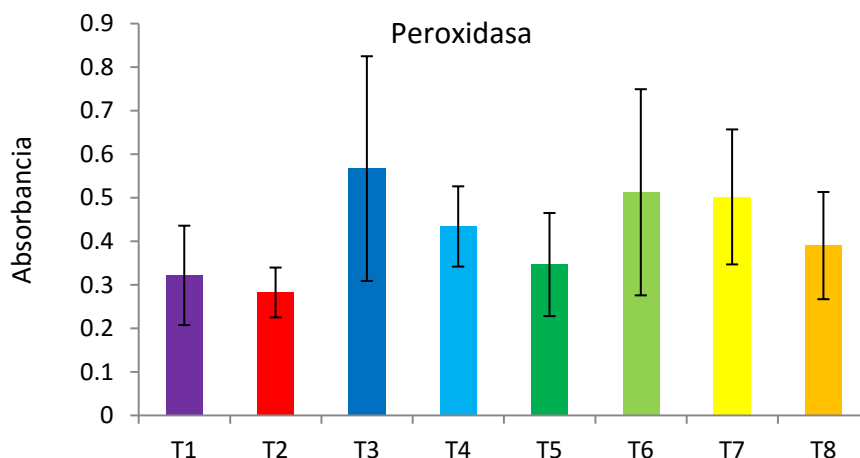
	Lisozima (µg/ml)	Peroxidasa Absorbancia
T 1	35.6111 ± 2.1039 a	0.3217 ± 0.2282
T 2	36.9896 ± 3.0508 a	0.2858 ± 0.1144
T 3	30.8125 ± 6.3400 bc	0.5640 ± 0.5181
T 4	30.5347 ± 3.3470 bc	0.4315 ± 0.1943
T 5	33.6319 ± 2.1337 ab	0.3439 ± 0.2320
T 6	27.5521 ± 6.6259 c	0.5152 ± 0.4715
T 7	32.1250 ± 2.2508 b	0.5024 ± 0.3095
T 8	36.1389 ± 2.0185 a	0.3896 ± 0.2472

Tabla 12: Concentraciones medias finales de enzimas del suero por tratamiento

Las gráficas resultantes de los datos obtenidos para la Lisozima (gráfica 16) y para la peroxidasa (gráfica 17) se muestran a continuación.



Gráfica 16: Concentración media final lisozima por tratamiento



Gráfica 17: Concentración media final peroxidada por tratamiento

6- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Como se ha comentado, la mortalidad ocurrida durante el periodo experimental fue de alrededor del 20%, sin diferencia entre tratamientos. La mortalidad accidental en dos tanques fue al final de la experiencia (dos días antes del muestreo final) y por ello se valoró el peso y talla de los peces.

Analizando la evolución de la ganancia de peso en los distintos muestreos (tabla 2) podemos decir que todas las estrategias de alimentación empleadas partieron de valores iniciales muy similares. Desde el primer mes parece separarse en dos bloques (gráfica1); T1, T5, T4, T3 (correspondientes a 3 tomas a saciedad y los alimentados con el 3.5% de la biomasa a distintas frecuencias), y T7, T8, T6, T2 (2.5% de biomasa, más 1 toma a saciedad).

En el primer bloque la tendencia parece ser mayor engorde a saciedad seguido de los tratamientos al 3.5% de biomasa. El comportamiento del tratamiento 5 resulta un tanto

anómalo al corresponder a una sola toma y mostrar un mayor crecimiento que los correspondientes a 4 y 3 tomas como cabría esperar. Por otro lado, el tratamiento 3, correspondiente a tres tomas, parece estancarse a partir del tercer mes.

En el segundo bloque la respuesta a los distintos tratamientos es bastante pareja aunque los efectos provocados por el tratamiento de una sola toma a saciedad parecen acusarse más con el paso del tiempo.

Al cabo de cuatro meses el engorde aproximado conseguido por cada uno de los tratamientos fue: T1, correspondiente a tres tomas a saciedad, 163.55g; T5, T4 y T3, correspondientes al 3.5% de biomasa a frecuencias de 1, 4 y 3 tomas respectivamente, 158.57g, 153.10g y 141, 92g; T7, T8 y T6 correspondientes al 2.5% de biomasa a frecuencias de 4, 1 y 3 tomas respectivamente, 134.19g, 133.46g y 128.03g; T2 correspondiente a 1 toma a saciedad 124.33g. Por ello, podemos decir que el mayor aumento de peso se consiguió cuando los ejemplares fueron alimentados a saciedad con una frecuencia de tres tomas al día, seguidos por los alimentados con el 3.5% de biomasa (gráfica 2) encontrando diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Por el contrario, el menor engorde se dio en los peces alimentados una vez al día a saciedad, estos resultados van en la línea de otros estudios realizados con la misma especie (Jerez *et al.*, 2009).

Un resultado muy similar se observa al estudiar la talla furcal (gráfica 3 y 4) destacando otra vez la conducta anómala del tratamiento 5 (1 toma del 3.5% de biomasa). A pesar de esto la tendencia sigue siendo un mayor aumento en la longitud de los ejemplares alimentados con tres tomas a saciedad, seguidos de aquellos a los que se les suministraba el 3.5% de biomasa. Los que menor aumento de talla han experimentado son los alimentados con una sola toma a saciedad.

En cuanto al índice específico de crecimiento diario no hemos encontrado diferencias significativas entre los distintos protocolos de alimentación utilizados (tabla 6, gráfica 6). El valor más alto corresponde al tratamiento 1, tres tomas a saciedad, seguido de los que suministraban un 3.5% de la biomasa, y el menor al tratamiento 2, una toma a saciedad. Esto coincide con otros estudios similares (Jerez *et al.*, 2009). Si nos fijamos en su evolución en los distintos muestreos (tabla 7, gráfica 7), vemos que los valores del SGR disminuyen con el paso del tiempo, teniendo un mayor índice de crecimiento diario al principio. Por su parte el factor de condición se ve menos afectado por el cambio de protocolo alimenticio (tabla 5, gráfica 5), sin diferencias significativas entre ellos, oscilando entre 1.965 ± 0.019 y 2.132 ± 0.177 .

Por el contrario, el índice de conversión de alimento (tabla 8, gráfica 8) sí presenta diferencias significativas entre las distintas estrategias de alimentación seguidas. Si comparamos los distintos muestreos para cada tratamiento (gráfica 9) observamos que en el primer muestreo los valores obtenidos son más bajos y van aumentando sucesivamente, esto indica que en las primeras etapas la conversión de alimento consumido en peso ganado es más eficaz, necesita consumir menos pienso para aumentar un kilo de peso. Al comparar los distintos tratamientos seguidos vemos que los menores valores de FCR corresponden a aquellos que proporcionan un 3.5% de su biomasa a diferentes frecuencias y el de tres tomas a saciedad (tratamientos 1, 3, 4 y 5), presentando por tanto una mayor eficiencia alimenticia.

Si analizamos ahora los resultados obtenidos para los parámetros del plasma sanguíneo estudiados (tablas 9 y 10), la primera consideración que debemos hacer es la alta desviación estándar obtenida en las muestras de glutamato oxalacetato transaminasa, lactato deshidrogenasa y lipasa, lo que disminuye la fiabilidad de los resultados obtenidos, así mismo, no disponemos de datos para la lipasa del tratamiento 8 por un problema surgido en el laboratorio. A partir de aquí, podemos decir que no hemos encontrado diferencias significativas en las concentraciones de glutamato oxalacetato transaminasa, lactato deshidrogenasa y lipasa en los distintos tratamientos, mientras sí las ha habido en los restantes parámetros analizados. En dos de los valores medidos; fosfatasa alcalina y triglicéridos, el valor más elevado corresponde al tratamiento 2 (una sola toma diaria a saciedad), mientras que ocupa el segundo lugar en los niveles de lactato deshidrogenasa, colesterol y glucosa. Es reseñable el hecho de que en la práctica totalidad de los parámetros analizados los valores más altos corresponden a los tratamientos 2, 5 y 8, una sola toma al día (gráficas 10 a 14), lo que significaría la existencia de diversas patologías (Varas, 2012) y un aumento del estrés (Sandnes *et al.*, 1988; Boeuf, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Pottinger y Carrick, 1999) ante una disminución de la frecuencia de alimentación, datos que corroboran los resultados obtenidos en otros trabajos con *Seriola dumerili* (Jerez *et al.*, 2009).

En cuanto a la concentración de proteínas totales en el plasma (tabla 11, gráfica 15), no parece afectada por la estrategia de alimentación seguida ya que no hemos encontrado diferencias significativas entre los distintos tratamientos, estando sus valores entre 3.66 ± 0.56 y 4.17 ± 0.33 g/dl. Dentro de esto, los valores más elevados que indicarían una mejor nutrición, corresponden a los tanques alimentados con el 3.5% de biomasa.

Por último, el análisis de los parámetros del suero, lisozima y peroxidasa, factores inmunológicos de los peces, no arroja resultados concluyentes (tabla 12). Mientras que los valores de peroxidasa presentan una desviación típica muy elevada que no permite encontrar diferencias significativas entre los distintos tratamientos (gráfica 16), las medidas encontradas para las concentraciones de lisozima parecen contradecir lo visto hasta ahora, ya que los valores más altos corresponden a las dietas de una sola toma (T5, T8 y T2) (gráfica 17) cuando lo esperable era encontrar valores más bajos, puesto que como aparece en estudios hechos con otras especies, como doradas o lenguados, el estrés ya sea causado por acciones puntuales en el primer caso (Uribe, 2009) o por hacinamiento en el segundo (Cañavate, 2013) reduce la actividad enzimática. Uno de los valores más altos de concentración obtenido corresponde a la estrategia de tres tomas a saciedad (T1), esto podía deberse a que un exceso de alimento conduce a una mayor cantidad de sólidos en suspensión, lo que aumenta la concentración de lisozima (Barandica, 2010).

7- CONCLUSIÓN

Aparentemente los ejemplares de *Seriola dumerili* estudiados crecen mejor cuando se les alimenta con el 3.5% del peso corporal al día, repartido en 3 ó 4 tomas, con valores de crecimiento y de utilización del alimento semejantes a los que presentan los peces alimentados con tres tomas a saciedad. Por el contrario, la peor de las estrategias de alimentación parece ser alimentarlos a saciedad una única vez pues ha dado los valores más bajos de crecimiento así como los mayores niveles de estrés y diversas patologías, en general las dietas de una sola toma parecen provocar un mayor estrés.

Para futuros experimentos de este tipo, creo que sería conveniente disminuir el número de ejemplares por tanque, lo que a mi modo de ver les proporcionaría un mayor bienestar. También debería procurarse, en la medida de lo posible, una menor oscilación de la temperatura durante todo el transcurso del experimento, manteniéndola alrededor de los 22°C.

Apparently, the specimens of *Seriola Dumerili* studied grow best when fed with the 3.5% of their body weight divided into 3 or 4 doses per day. This strategy has shown growth values and use of such food similar to those presented by fish fed with three doses to satiety. On the other hand, the worst feeding strategy seems to be feeding them only once to satiation. This method has shown the lowest values of growth and the highest levels of stress and different diseases. In general, diets of one shot seem to cause more stress.

For future experiments of this kind, I suggest it would be appropriate to reduce the number of specimens per tank, which from my point of view would provide the fish greater well being. It should also be convenient, to the extent it is possible, to reduce the oscillation of the temperature in the tank during the whole process of the experiment, keeping it around 22°C.

8- REFERENCIAS

- A-Gomez, A.G., Pe, L., Toma, A. (2005). Utilization of soybean meal as an alternative protein source in the Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerili*. *Aquac. Nutr.* 11: 333–340.
- Ahuir, A.E., Tomás, J., Montero, F.E., García, D., Roche, M., Terrón, A., et al. (2004). Studies on Cryptocaryonosis in l'Oceanogràfic aquarium of Valencia. (Abstract). IX European Multicolloquium of Parasitology. Valencia, España: 558.
- Andaloro, F., Pipitone, C. (1997). Food and feeding habits of the amberjack, *Seriola dumerili* in the Central Mediterranean Sea during the spawning season. *Cah.Biol. Mar.* 38: 91–96.
- Alcaide, E. (2003). Numerical Taxonomy of Vibrionaceae Isolated from Cultured Amberjack (*Seriola dumerili*) and Surrounding Water. *Current Microbiology* 46(3): 184-9.
- Alcaide, E., Sanjuan, E., De La Gándara, F., García-Gómez, A. (2000). Susceptibility of Amberjack (*Seriola dumerili*) to bacterial fish pathogens. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 20(3): 153-6.
- Barandica, L. (2010). *Efectos de las dietas experimentales en la respuesta inmune de los peces*. Tesis doctoral Universidad Autónoma de Barcelona, 16-17-53.
- Boeuf, G. (1993). Salmonid smolting: A pre-adaptation to the oceanic environment. In: Cliff J & Jensen FB (Editors), *Fish Ecophysiology*. Chapman and Hall, London, UK, 105-135.
- Boix, J., Fernández-Colomé, J.V., Macia, G. (1993). El cultivo de seriola (*Seriola dumerili*, Risso 1810) en jaula flotante en el término marítimo de Les Cases D'Alcanar (Tarragona). En: Cerviño A, Landín A, De Coó A, Guerra A, Torre M, Eds. *Actas del IV Congreso Nacional de Acuicultura*. Centro de Investigaciones Mariñas, Vilagarcía de Arousa, España: 133-6.
- Booth, M.A., Allan, G.L., Pirozzi, I. (2010). Estimation of digestible protein and energy requirements of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* using a factorial approach. *Aquaculture* 307: 247–59.
- Booth, M.A., Moses, M.D., Allan, G.L. (2013). Utilisation of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture* 376-379: 151–61.
- Bowyer, J.N., Booth, M.A., Qin, J.G., D'Antignana, T., Thomson, M.J.S., Stone, D. (2014). Temperature and dissolved oxygen influence growth and digestive enzyme activities of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833). *Aquac. Res.* 45: 2010–20.
- Cañavate, J. (2013). Cultivo de soleidos: el lenguado senegalés; en *Diversificación de especies en la piscicultura marina española*. (Abellán, E. y Arnal I., coordinadores). Observatorio Español de Acuicultura, Instituto Español de Oceanografía, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid. 266.
- Cavaliere, A., Crisafi, E., Faranda, F., Greco, S., Lo Paro, G., Manganaro, A. et al. (1989). Collection of fingerlings and rearing of *Seriola dumerili* in tanks. En: De Pauw N, Jaspers E, Ackefors H, Wilkins N. Eds. *Aquaculture A Biotechnology in progress*. Bredene, Bélgica: European Aquaculture Society: 119-23.
- Cisneros, E., Pupo, J. y Céspedes, E. (1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutatión peroxidasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 16(1), 10-15 (junio 1997; scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001997000100002&lng=es&nrm=iso&tln=es) (consultada el 29 de abril de 2016)
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. (2015). Effects of Partial Substitution of Fish Meal by Soybean Meal with or without Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) on Growth Performance, Digestibility, and Immune Response of Amberjack, *Seriola dumerili* Juveniles. *Biomed Res. Int.* 2015: 11.

- De la Gándara, F. (2006). IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, 326-340 - CIVIA 2006 (www.civa2006.org), (consultada el 18 de abril de 2016).
- De la Gándara, F., Alonso, I., Montero, F.E., Raga, J.A. (2005) ¿Sobrevivir a Cryptocaryon produce inmunidad en *Seriola dumerili*? (Abstract). X Congreso Nacional de Acuicultura Gandía (España): 304-5.
- De la Gándara, F., Jover, M., García-Gómez, A. (2002). Efecto del tratamiento con formol sobre el consumo de oxígeno de juveniles de *Seriola mediterránea* *Seriola dumerili* (Risso, 1810). Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 18, 1-4: 377-83.
- De la Gándara, F., Montero, F.E., García-Gómez, A., Raga, J.A. (2004). Infections of *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora) on *Seriola dumerili* in the experimental facilities of IEO Mazarrón (SE Spain). IX European Multicolloquium of Parasitology. Valencia, 20: 557-8.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D. (2002). The relationships between stocking density and the welfare of farmed rainbow trout. Journal of Fish Biology. 61: 493-531.
- Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M.L. (1987). Fiches FAO d'Identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et mer Noire, Zone de Pêche 37. Rome: FAO.
- Gallego, L. (1978). Vertebrados Ibéricos, I: Peces. Sevilla: Copistería-impresión Andalucía.
- García-Gómez, A. (1993). Primeras experiencias de crecimiento de juveniles de *Seriola mediterránea* (*Seriola dumerili*, Risso 1810) alimentados con una dieta semihúmeda. Bol Inst Esp Oceanogr. 9, 2: 347-60.
- García-Gómez, A. (2000). Recent advances in nutritional aspects of *Seriola dumerili*. Cah Options Méditerran. 47: 249-57.
- García-Gómez, A., Díaz, M.V. (1995). Culture of *Seriola dumerili*. Cah. Options Méditerran. 16: 103-14.
- García-Gómez, A., De la Gándara, F., Raja T. (2011). Utilización del aceite de clavo, *Syzygium aromaticum* L. (Merr. & Perry), como anestésico eficaz y económico para labores rutinarias de manipulación de peces marinos cultivados. Boletín. Instituto Español de Oceanografía, 18, 1-4; 21 – 22
- Giovanardi, O., Mattioli, G., Piccinetti, C., Sambucci, G. (1984). Prime esperienze sull'allevamento della ricciola (*Seriola dumerili*, Risso 1810) in Italia. Riv. It. Piscic. Ittiop. A XIX, 4: 123-30.
- González, G., García-Gómez, A., Jover, M., Crespo, S. (1995). Influence of artificial food on 1+ amberjack (*Seriola dumerili*, Risso) sanguinicoliasis and epitheliocystis. Bull Eur Ass Fish Pathol, 15, 1: 6-14.
- Grau, A., Riera, F., Carbonell, E. (1999). Some protozoan and metazoan parasites of the amberjack from the Balearic Sea (western Mediterranean). Aquaculture International, 7: 307-17.
- Greco, S., Caridi, D., Cammaroto, S., Genovese, L. (1993). Preliminary studies on artificial feeding of amberjack fingerlings. EAS, Special publication: 247-54.
- Groat, D.R. (2002). Effects of feeding strategies on growth of Florida Pompano (*Trachinotus carolinus*) in closed recirculating systems. Master's Thesis, Louisiana State University. 96 p.
- Hagiwara, H., Takano, R., Noguchi, M., Taniuchi, Y., Kawano, K., Narita, M., Yanai, T. (2011). A study of lesions induced in *Seriola dumerili* infected naturally with *Streptococcus dysgalactiae*. J. Comp. Pathol. 145: 122–5.
- Hirayama, T., Kawano, F., Hirazawa, N. (2009). Effect of *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection on host amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae). Aquaculture 288: 159–165.
- Hirazawa, N., Oshima, S., Mitsuboshi, T. (2001). The anthelmintic effect of medium-chain fatty acids against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripes*: evaluation of doses of caprylic acid at different water temperatures. Aquaculture 195: 211–223.
- Hirazawa, N., Takano, R., Hagiwara, H., Noguchi, M., Narita, M. (2010). The influence of different water temperatures on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection, parasite growth, egg production and emerging second generation on amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the histopathological effect of this parasite on fi. Aquaculture 299: 2–7.
- Hontela, A., Rasmussen, J., Audet, C., Chevalier, G. (1992). Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs and Mercury. Arch. Environ. Contam. Toxicology, 22: 278-283.
- Ikenoue, H., Kafuku, T. (1992). Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). En: Developments in Aquaculture and Fisheries Science: 131-43.

- InterAqua C.B. (2013). La seriola dumerili se propone como especie de interés comercial en Europa. (19 de diciembre de 2013; www.mispecies.com/nav/actualidad/noticias/noticia-detalle/La-seriola-dumerili-se-propone-como-especie-de-inter-comercial-en-Europa) (consultada el 5 de mayo de 2016).
- Jerez, S., Hernández, I., Cejas, J.R., Almansa, E., Samper, M., Santamaría, F.J. (1999). Efecto de la estrategia de alimentación en el crecimiento del medregal (*Seriola dumerili*) en condiciones de cultivo; en *Con la acuicultura alimentamos tu salud, libro de resúmenes*, (Beaz, D., Villarroel, M., Cárdenas, S., eds.). Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino, 164-5.
- Jerez, S., Hernández, I., Cejas, J.R., Almansa, E., Samper, M., Villamandos, J.E., Felipe, B.C. (2009). Efectos de la estrategia de alimentación en la hematología y bioquímica sanguínea del medregal (*Seriola dumerili*) en condiciones de cultivo; en *Con la acuicultura alimentamos tu salud, libro de resúmenes*, (Beaz, D., Villarroel, M., Cárdenas, S., eds.). Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino, 162-3.
- Johansen, S.J.S., Jobling, M. (1998). The influence of feeding regime on growth and slaughter traits of cage-reared Atlantic salmon. *Aquaculture International*. 6: 1-17.
- Jover, M., García-Gómez, A., Tomás, A., De la Gándara, F., Pérez, L. (1999). Growth of mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture*, 179: 25-33.
- Junta De Andalucía, 2001. Base de datos terminológicos y de identificación de especies pesqueras de las costas de Andalucía (6 abril 2010; www.ictioterm.es/nombre_vernaculo.php?nv=1599) (consultada el 19 de abril de 2016).
- Kato, G., Kato, K., Saito, K., Pe, Y., Kondo, H., Aoki, T., Hirono, I. (2011). Vaccine efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG against *Mycobacterium* sp. infection in amberjack *Seriola dumerili*. *Fish Shellfish Immunol.* 30, 467-472.
- Lazzari, A., Barbera, G. (1989). Farming the Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerilii* (Risso, 1810) in concrete ponds: results and perspectives. En: De Pauw N, Jaspers E, Ackefors H, Wilkins N, Eds. *Aquaculture - A biotechnology in progress*. Bredene, Bélgica: European Aquaculture Society: 209-13.
- Lim, C., Klesius, H. (2003). Influence of feed deprivation on haematology, macrophage chemotaxis, and resistance to *Edwardsiella ictaluri* challenge of channel catfish. *J. Aquatic Animal Health*, 15: 13-20
- Luque, A. (1997). *Inmunología de peces*. (Mayo 1997; www.encuentros.uma.es/encuentros40/inmunol.html) (Consultada el 29 de abril de 2016)
- Mazzola, A., Favalaro, E., Sara, G. (1999). Experiences of integrated mariculture in a southern Tyrrhenian area (Mediterranean Sea). *Aquaculture Research*, 30: 773-80.
- Mazzola, A., Favalaro, E., Sara, G. (2000). Cultivation of the Mediterranean amberjack, *Seriola dumerili* (Risso, 1810), in submerged cages in the Western Mediterranean Sea. (Abstract) *Aquaculture* 181: 257-68.
- Mazzola, A., Sara, G., Favalaro, E., Mirto, S. (1996). Sistemi di maricoltura open-sea per l'allevamento di *Seriola dumerili* Pisces, Osteichthyes nel Golfo di Castellammare Sicilia Occidentale. *Biol. Mar. Medit.* 3, 1: 176-85.
- Montero, F.E. (2001). Estudio parasitológico en cultivos de *Seriola dumerili* en el Mediterráneo. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia, España.
- Montero, F.E., Crespo, S., Padrós, F., De la Gándara, F., García-Gómez, A., Raga, J.A. (2004). Effects of the gill parasite *Zeuxapta seriolae* (Monogenea: Heteraxinidae) on the amberjack *Seriola dumerili* Risso (Teleostei: Carangidae). *Aquaculture*, 232, 1-4:153-63.
- Montero, F.E., De la Gándara, F., García-Gómez, A., Raga, J.A. (2000). Hatching success of *Zeuxapta seriolae* (Monogenea) under experimental conditions. *Acta Parasitologica*, 45, 3: 227.
- Montero, F.E., García-Gómez, A., De la Gándara, F., Raga, J.A. (2001). Parásitos del cultivo de la lecha (*Seriola dumerili*) en el Mediterráneo Occidental. *Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas*, 4: 513-8.
- Montero, F.E., Repullés, A., De la Gándara, F., Raga, J.A. (2005). Pathologies of the greater amberjack (*Seriola dumerili*) in European Aquaculture. (Abstract). EAFP 12th International Conference, Copenhagen (Dinamarca) P9.3.
- Muraccioli, P., De la Gándara, F., García-Gómez, A. (2000). Intensive farming potential of *Seriola dumerili* (Risso 1810) in Corsica. *Cah Options Méditerran.* 47:267-73
- Nakada, M. (2002). Yellowtail culture development and solutions for the future.

- Reviews in Fisheries Science, 10, 3-4: 559-75.
- Navarro, J.M., Belmonte, A., Culmarex SA. (1987). Cultivo de seriola en jaulas flotantes en la bahía de El Hornillo (Murcia SE España). Cuadernos Marisqueros, 8:11-6.
- Ogawa, K., Fukudome, M., Wakabayash, H. (1995). *Neobenedenia girellae* (Hargis, 1955) Yamaguti, 1963 (Monogenea: capsalidae) from cultured marine fishes of Japan. J. Parasitol. 81: 223-227.
- Ohno, Y., Kawano, F., Hirazawa, N. (2008). Susceptibility by amberjack (*Seriola dumerili*), yellowtail (*S. quinquerediata*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) to *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection and their acquired protection. *Aquaculture* 274: 30-35.
- Ottolenghi, F., Silvestri, C., Giordano, P., Lovatelli, A., New MB. (2004). Capture-based aquaculture. The fattening of eels, groupers, tunas and yellowtails. Rome: FAO.
- Priede, I., Secomber, C. (1988). The biology of fish production. In: Laird, L.M., Needhan, T. Salmon and Trout Farming. Ellis Horwood Ltd., England,
- Pickering, A. (1981). The concept of biological stress. In Pickering, A. Ed. Stress and Fish. Academic Press, London: 1-9.
- Pottinger, T., Carrick, T. (1999). A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture*, 175: 351-363.
- Quade, M.J., Roth, J.A., (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 58, 239-248.
- Repulles, A., Montero, F.E., De la Gándara, F., Raga, J.A. (2005). Expansión de *Zeuxapta seriola* (Monogenea: Heteraxinidae) parásito branquial de los cultivos de la lecha (*Seriola dumerili*). (Abstract). el X Congreso Nacional de Acuicultura Gandía (España): 328-9.
- Ricker, W. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada*. 191: 382 pp
- Riche, M., Haley, D.I., Oetker, M., Garbrecht, S., Garling, L. (2004). Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 234: 657-673.
- Rigos, G., Pavlidis, M., Divanach, P. (2001). Host susceptibility to *Cryptocaryon* sp infection of Mediterranean marine broodfish held under intensive culture conditions: a case report. *Bull Eur Ass Fish Pathol* , 21, 1: 33-6.
- Rotllant, J., Pavlidis, M., Kentouri, M., Adad, M. E., Tort, L. (1997). Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress. *Aquaculture* 156; 279-90.
- Sandnes K., Lie, O., Waagb, R. (1988). Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* *Journal of Fish Biology*, 32, 1, 129-136.
- Shearer, K.D. (1994). Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*. 119: 63-88.
- Skaramuka, B., Kozul, V., Teskeredzic, Z., Bolotin, J., Onofri, V. (2001). Growth rate of tankreared Mediterranean amberjack, *Seriola dumerili* (Risso 1810) fed on three different diets. *J Appl Ichthyol*, 17: 130-33.
- Smith-Vaniz, W.F. (1986). Carangidae En: Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, A., Tortonese, E. Eds. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Paris: UNESCO: 815-44.
- Takakuwa, F., Fukada, H., Hosokawa, H., Masumoto, T. (2006). Optimum digestible protein and energy levels and ratio for greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso) fingerling. *Aquac. Res.* 37: 1532-1539.
- Talbot, C., García-Gómez, A., De la Gándara, F., Muraccioli, P. (2000). Food intake, growth, and body composition in Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed isonitrogenous diets containing different lipid levels. *Cah Options Méditerran.* 47: 259-66.
- Tsevis, N., Klaoudatos, S., Conides, A. (1992). Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns. *Aquaculture*. 101: 293-304.
- Tomás, A. (2003). Contribución al estudio de las necesidades nutritivas de la seriola mediterránea (*Seriola dumerili*) alimentada con piensos extrusionados. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ciencia Animal.
- Uribe, C. (2009). *Mecanismos inmunológicos en peces. Inmunidad inespecífica y adaptativa e inmunoprofilaxis. Revisión bibliográfica.* Tesis Universidad Austral de Chile.
- Varas, S. (2012). Bioquímica para enfermería. (mayo 2012; bioquimicaenfermeria.files.wordpress.com/2012/05/tema-7-enzimas-enzimologc3ada-

clc3adnica.pdf) (consultada el 29 de abril de 2016).

- Watanabe, K., Kuriyama, I., Satoh, K., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T. (2001). Further clarification of winter energy and protein requirements at the optimum feeding frequency for yellowtail. *Fish. Sci.* 67: 90–103.
- Watanabe, T., Vassallo-Agius, R. (2003). Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* 227: 35–61.
- Wendelaar Bonga, S. (1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77, 3: 591-625.