

CONTROL DEL CRECIMIENTO LARVARIO DE LA DORADA MEDIANTE MÉTODOS ACÚSTICOS

PACS: 43.30.+m; 43.30.Sf; 43.30.Vh

Luís Lorenzo Carrillo La Rosa¹; Vicente Puig²; Susana Llorens²; Aurélio Ortega³; Fernando de la Gándara³; Isabel Perez-Arjona²; Victor Espinosa².

¹Universidad Nacional Agraria La Molina. Departamento Académico de Manejo Pesquero y Medio Ambiente. Avenida La Molina, Lima, Perú. lcarrillo@lamolina.edu.pe

²I.G.I.C. (Instituto de Investigación para la Gestión Integrada de Zonas Costeras) – Universitat Politècnica de Valencia, C/ Paranimf, 1 46730 Grao de Gandía (Valencia - Spain).

vipuipon@epsg.upv.es,

³IEO (Instituto Español de Oceanografía) Centro Oceanográfico de Murcia. Planta de Cultivos Marinos, Ctra. de la Azohia s/n 30860 - Puerto de Mazarrón (Murcia-Spain).

fernando.delagandara@mu.ieo.es

Palabras Clave: ultrasonidos, target strength, ecosonda, larva, dorada, vejiga natatoria

ABSTRACT

This work presents control procedure of the inflation of the seabream larvae's swimbladder using 200 kHz scientific echosounder. The aim of this technique is to know the number of larvae that have developed properly their swimbladder. This data will help us to determine the quality of a larval culture by acoustic methods that are not invasive for larvae and do not interfere with their growth. In addition, this technique will allow the control of larval growth in later stages.

RESUMEN

En este trabajo se presenta un mecanismo para el control del hinchado de la vejiga natatoria de las larvas de dorada mediante el uso de una ecosonda científica de 200 kHz. Esta técnica tiene como finalidad conocer la cantidad de larvas que han realizado el hinchado de la vejiga, este dato nos ayudará a determinar la calidad de un cultivo larvario por métodos acústicos, que no resultan invasivos para las larvas ni interfieren en su crecimiento. Además, esta técnica permitirá realizar el control del crecimiento larvario en fases posteriores.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la producción acuícola se ha revelado como una actividad económica importante que permite la explotación de diferentes especies marinas de manera sostenible. Los cultivos en jaulas o piscifactorías han crecido en torno al 1.1% mientras que las extracciones en el mar solo se han incrementado en un 0.2% según lo reportado por la FAO (FAO, 2017). Por ello se hace patente la necesidad de disponer de herramientas para el control de las

producciones piscícolas de una forma no intrusiva que permitan que el proceso de cría sea económica y ecológicamente eficiente.

La producción acuícola de la dorada se centra principalmente en el Mediterráneo y anualmente se incrementa la cantidad de toneladas de doradas que llegan al mercado tras haber sido criadas en cautividad. Soliveres (2015) en su trabajo fijó las bases para desarrollar herramientas que permitiesen el control del crecimiento de las doradas en jaulas marinas mediante el uso de técnicas acústicas. En dicho trabajo se establecieron relaciones entre la longitud de la dorada y su respuesta acústica al ser insonificada por un pulso acústico a 200 kHz. Tanto Soliveres (2005) en su trabajo sobre las doradas, como otros autores que realizan trabajos en jaulas para otras especies como el salmón o el atún rojo (Knudsen et al., 2004; Puig et al. 2011; Puig (2017)) se centran en el control del proceso para los peces en las jaulas, pero no se realiza un control del crecimiento larvario precedente a la implantación de los peces dichas jaulas. Este proceso es de vital importancia por tratarse del comienzo del ciclo productivo y por la fragilidad de los peces en este estado. En este trabajo se propone un mecanismo de control del crecimiento de las larvas de dorada en los tanques en los que se crían antes de ser trasladadas a las jaulas marinas haciendo uso de técnicas acústicas. Para ello, se monitoriza el hinchado de la vejiga natatoria como parámetro de calidad y viabilidad de las larvas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron medidas en un tanque con larvas de dorada en las instalaciones del Centro de Cultivos Marinos de Mazarrón perteneciente al Centro Oceanográfico de Murcia del Instituto Español de Oceanografía (IEO). El tanque de forma cilíndrica tenía un volumen de 20 m³ (1.6 metros de profundidad y 2 m de radio). En dicho tanque se colocaron 300.000 huevos de dorada (*Sparus aurata*) el día 28 de abril de 2017. Los huevos eclosionaron el día 30 de abril y las larvas fueron monitorizadas a partir del día 1 después de la eclosión (dph1, 1 de mayo de 2017) hasta el día dph13 (13 de mayo de 2017). Para disponer de información sobre el crecimiento de las larvas desde el momento de la eclosión de los huevos, se recogieron muestras representativas de tal manera que pudiera conocerse la cantidad de larvas existentes en cada momento en el tanque y su tamaño. Se muestrearon 25 de larvas por día con un microscopio óptico Leica MS5 y una cámara Leica S3 de alta definición. Para procesar las imágenes obtenidas y realizar las mediciones de los diferentes parámetros biométricos se utilizó el software "Leica Application Suite" (LAS123). Se tomaron medidas de la Longitud total (Lt), Longitud estándar (Ls) y diámetro de la vejiga (Φ) de larvas entre los días 2 al 13 post eclosión (del dph2 hasta dph13).

Durante el tiempo que duraron las medidas, se siguió el procedimiento habitual de cría de las larvas de dorada, con la salvedad que a algunas horas del día se paró la circulación de agua y el aireado para poder disponer de medidas de control que permitieran validar los datos obtenidos.

El fotoperiodo para las larvas de dorada era de 12 horas comprendido entre las 08:00 y 20:00 horas, con iluminación de 6 fluorescentes tubulares de 30 W y 2600 lm cada uno formando un triángulo equilátero (2 fluorescentes por cada lado). Esta iluminación colocada en el techo de la nave, permitió un aumento significativo en la supervivencia de larvas (Kurata et al., 2012), dado que las larvas tenían una distribución uniforme en todo el volumen de agua. Las larvas fueron alimentadas diariamente a partir del día 2 de mayo. El proceso de alimentación se inició con 80 millones de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y 100 litros de fitoplancton (*Tetraselmis suecica*, *Chlorella minutissima*) y la cantidad de rotíferos fue disminuyendo progresivamente hasta 40 millones el día dph6 manteniéndose constante hasta el dph12. El tanque disponía, además, de un limpiador de superficie (skimmer) para mantener la superficie del agua libre de grasas con el fin de permitir el inflado de la vejiga natatoria de las larvas (Georgakopoulou et al., 2010 y Kurata et al., 2012).

Los parámetros abióticos fueron monitorizados diariamente, la temperatura (°C) se midió con un termómetro de alta precisión (Checktemp 1), la salinidad con un refractómetro óptico (Atago, modelo S-10E) y el oxígeno disuelto (con un sensor Handy Polaris). Estos parámetros

ambientales junto con el valor del pH se utilizaron para el cálculo de la velocidad de propagación del sonido en el agua a parte de para el control del crecimiento de las larvas.

Para obtener los datos acústicos se utilizó una ecosonda EK60 de Simrad junto con un transductor split-beam trabajando a 200 kHz. En la Tabla 1 se detalla la configuración de medida utilizada. El transductor se colocó en el fondo del tanque mirando hacia la superficie, eligiendo una zona del tanque en la que los aireadores estuviesen los más lejanos posible del transductor. Para la calibración, se siguió el procedimiento descrito por el fabricante en el manual de la ecosonda, haciéndose uso del método del blanco estándar (Simrad, 2008). Se usó una esfera cobre de 13,7 mm de diámetro.

Tabla 1. Datos de la ecosonda de 200 kHz utilizada en las mediciones en el tanque G4 y del detector de ecos individuales.

Ecosonda	200kHz
<i>Intervalo entre pings (s⁻¹)</i>	1
<i>Ganancia del transductor (dB)</i>	24.48
<i>Duración del pulso (ms)</i>	0.064
<i>Potencia (W)</i>	25
<i>Two-way beam angle (dB)</i>	-20.7
<i>Minor axis 3dB beam angle (°)</i>	6.35
<i>Major axis 3dB beam angle (°)</i>	6.41
<i>Detección de ecos individuales</i>	
<i>Mínimo umbral de TS (dB)</i>	-90
<i>Máximo umbral de TS (dB)</i>	-60
<i>Longitud mínima del eco respecto a la duración del pulso</i>	0.4
<i>Longitud máxima del eco respecto a la duración del pulso</i>	4
<i>Máxima desviación de fase</i>	0.5
<i>Máxima compensación de ganancia (dB)</i>	6

El análisis de los datos se realizó con una aplicación desarrollada en Matlab® que realizaba el cálculo de valores estadísticos del TS compensado en una capa comprendida entre 1 y 1.2 metros de la cara del transductor para intervalos de una hora. Dicho análisis permitió obtener los valores promedio y la mediana del TS compensado para diferentes intervalos temporales. Se eligieron dos instantes temporales uno en horario nocturno (2:00 horas), y otro en horario diurno (18:00 horas). Se eligen estas dos franjas para poder tener datos diferenciados entre el día y la noche, y por ser horarios en los que los trabajos en la planta de cultivo son menos intensos, existiendo menor cantidad de agentes externos (como el ruido electrónico procedente de mecanismos ajenos al experimento). Además, se realizaron medidas de control en la que el tanque no disponía ni de aireación ni de renovación de agua. Las medidas de control se realizaron para poder validar los resultados realizados en condiciones normales de producción, ya que, dichas medidas de control no se encontraban afectadas por ningún parámetro externo y se correspondían únicamente con la contribución de las larvas y del alimento que se les proporcionaba.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos de la medida de la longitud de las larvas durante el tiempo que duró el experimento. La longitud de las larvas de dorada varió de 3,7 mm (longitud total) hasta un máximo de 5,8 mm después de 13 días (Figura 1), según se indica en la literatura el crecimiento de las larvas de dorada es lento hasta los 60 días con relación al peso corporal (Georgakopoulou et al., 2010; Viscaino et al., 2016). Como se puede observar en la Figura 2, desde el dph2 hasta el dph7 la variación de la longitud total es muy pequeña, es a partir

del dph8 que se puede percibir un incremento del tamaño medio de las larvas, asociado a un mejor desarrollo y a la no aparición de lordosis después del hinchado de la vejiga natatoria (Kitajima et al., 1977; Kitajima et al., 1981). Se sabe que este hecho tiene relación directa con el crecimiento positivo de las larvas y con mayor variación desde el dph8 al dph13 en el que la longitud total aumenta hasta 0,71 mm y la longitud estándar tiene aumentos de 0,78 mm (Figura 1).

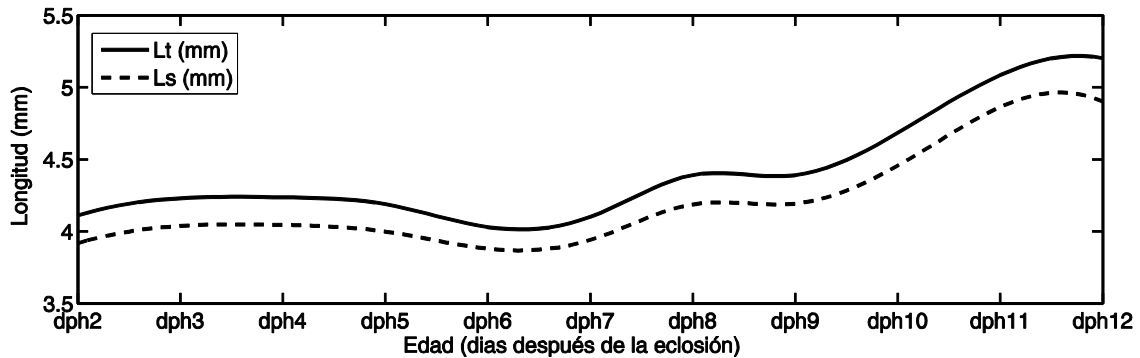


Figura 1. Valor de la mediana de la longitud total (Lt) y longitud estándar (Ls) de las larvas de dorada desde el día 2 (dph2) hasta el día 13 (dph13) después de la eclosión.

Según lo indicado por Kitajima et al. (1977) las larvas de dorada realizan el hinchado de la vejiga natatoria alrededor del día 8 después de la eclosión dph8. En la Tabla 2 se puede observar como varía el diámetro de la vejiga de las larvas a partir del día 8 con el comienzo del proceso de hinchado.

Tabla 2. Longitud total (L_t), longitud estándar (L_s) y diámetro de la vejiga natatoria (Φ) de larvas con 100% de vejigas natatorias visualizadas en las imágenes.

Día(dph)	L_t (mm)	L_s (mm)	Φ (mm)
8	4.391	4.188	0.146
10	4.685	4.456	0.154
11	5.084	4.862	0.161
12	5.202	4.900	0.217

Al comparar el diámetro y la longitud estándar (ratio en %) desde el día 8 después de la eclosión la ratio oscila entre 3,2 % y 4,6 %. No existen trabajos de TS de larvas de peces, solo existen en peces juveniles y adultos, donde la vejiga natatoria ocupa un volumen del 4 al 10 % del volumen corporal (Capen, 1967; Furusawa, 1989): por lo que estableciendo una analogía para las larvas con estos trabajos se podría indicar que la ratio longitud de la vejiga natatoria/longitud en las larvas es menor.

Cuando se realizan medidas acústicas con peces, la vejiga natatoria es la responsable de la mayor cantidad de la energía acústica reflejada por el pez, ya que, se produce un cambio de interfaz agua-gas. El valor del TS (energía acústica retrodispersada por el pez) depende de la

longitud y el diámetro de la vejiga, y el tamaño de la vejiga, a su vez, esta relacionando con el tamaño del pez.

En la Figura 2 se representan los valores de la mediana del TS compensado para una capa comprendida entre 1 y 1.2 metros, para intervalos de una hora. En los dos intervalos horarios mostrados en dicha gráfica las condiciones dentro del tanque se correspondían con las de producción, existiendo renovación de agua y manteniéndose encendido el mecanismo de aireado que impide que las larvas se peguen a las paredes y al suelo provocándoles la muerte. Los valores representados en la gráfica revelan que a partir del día 8 después de la eclosión, el valor de la mediana del TS se incrementa para todos los intervalos horarios, con una subida pronunciada lo que revela el hinchado de la vejiga de las larvas. Tras el hinchado de la vejiga natatoria, las larvas de consistencia acuosa, pasan a convertirse en un reflector de la energía acústica más potente al disponer de una burbuja de aire (en la vejiga), contribuyendo a aumentar el valor del TS en el tanque. No hay que olvidar que, al encontrarnos en condiciones de producción, tanto las burbujas provocadas por el sistema de aireación, así como las derivadas del sistema de renovación de agua computan junto con las larvas al valor total del TS en cada intervalo horario.

Se aprecia en la Figura 2 que durante el dph9 a las 2:00 horas de la madrugada ya es evidente el aumento del valor del TS, tras una toma de muestras posterior a ese instante se comprueba que casi la totalidad de las larvas han hinchado la vejiga (alrededor del 90%). Para la franja en horario diurno es más evidente a partir del dph10 cuando la totalidad de las larvas han hinchado la vejiga. Este hecho puede deberse a las diferencias día/noche en el comportamiento de las larvas, ya que; las larvas tienden a acumular una mayor cantidad de gas durante las horas sin luz y relajan la vejiga durante el día. El dph9 la diferencia de valores del TS para la franja horaria de las 2:00 respecto al dph8 es de alrededor de 5 dB mientras que en la franja diurna (18:00) esa diferencia se reduce a solo 1.5 dB. Sin embargo, dichos valores se igualan a partir del dph10 con el 100 % de las vejigas hinchadas siendo la diferencia para ambas franjas de 5dB con respecto al dph8 en el que tan solo el 20% de las larvas habían hinchado la vejiga.

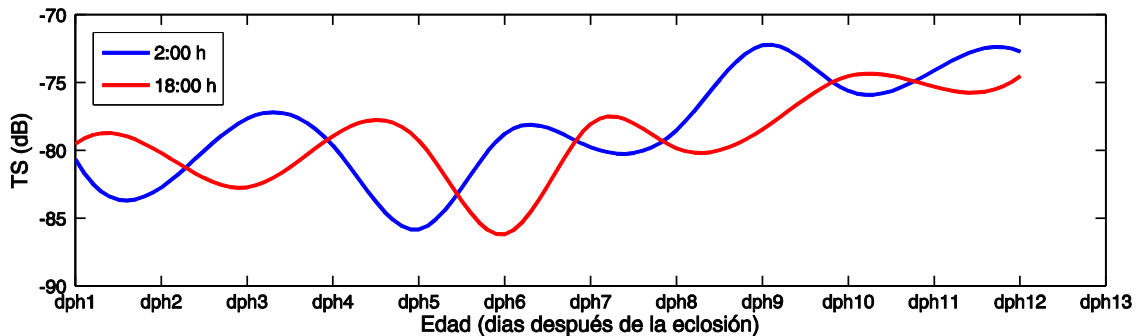


Figura 2. Valor de la mediana de la potencia del blanco (TS) para intervalos de una hora a partir de diferentes instantes temporales (02:00 horas, 18:00 horas) desde el día 1/05/17 al día 12/05/17.

Tras comprobar que existen evidencias de la posibilidad de monitorizar el hinchado de la vejiga natatoria, y por tanto el proceso de crecimiento de las larvas en condiciones de producción se analizan los datos de control para poder validar las observaciones explicadas en la Figura 2. Para ellos, como se muestra en la Figura 3 se representan los valores obtenidos en las medidas de control en las que no existía aireación ni renovación de agua, por lo que la única contribución a los valores del TS provenía de las larvas. Entre los dph3 y dph7 cuando había evidencia del hinchado de las vejigas se realizaron dos mediciones de control de 15 minutos de duración para no alterar sustancialmente el cultivo. A dph8 solo se dispone de una medida de control y de dph9 al dph13 se toman 3 medidas de control.

En la Figura 3 puede observarse el aumento del valor del TS a lo largo del dph9, que aumenta el dph10, ya que aumentan también el porcentaje de larvas con la vejiga natatoria hinchada hasta el 100% y se eleva ligeramente durante el dph11 y el dph13. Las medidas de control confirman los datos obtenidos en condiciones de producción y permiten observar, además, variaciones entre el día y la noche, ya que, los valores máximos medidos desde el dph9 se corresponden con medidas de control tomadas en horario nocturno mientras que los mínimos se corresponden con valores tomados en horario diurno.

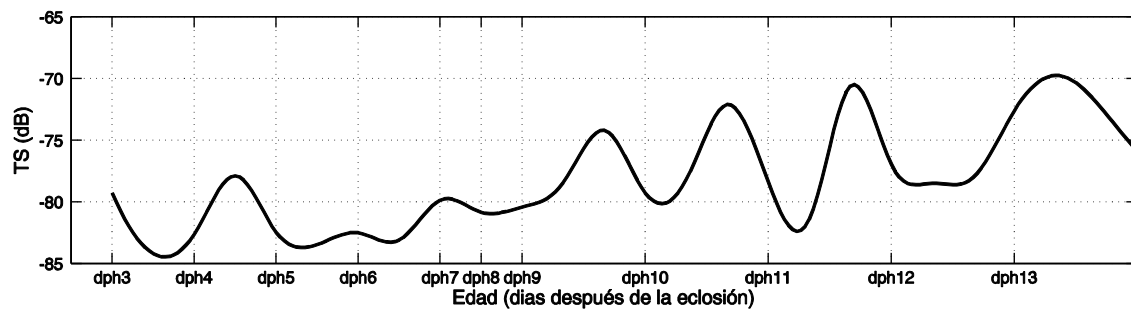


Figura 3. Valor de la mediana del TS (dB) representada desde el día 03/05/17 (dph3) hasta el día 13/05/17 (dph13) en condiciones de control (no ingreso de agua ni aire al tanque).

CONCLUSIONES

Se ha observado que el crecimiento de las larvas de dorada es lento, y su apreciación en los primeros trece días después de la eclosión puede parecer poco evidente, el hecho del hinchado de la vejiga a partir de los días 7 u 8 después es importante tanto en el desarrollo de las larvas como en la capacidad de su detección por métodos acústicos. La capacidad de poder hinchar y deshinchar la vejiga natatoria les permite autonomía en su movimiento permitiendo un mejor desarrollo de las larvas (evitando en gran medida la aparición de lordosis y aumentando la supervivencia de las larvas) y mejora la capacidad de detección de las larvas la aumentar la posibilidad de que atraviesen el haz acústico.

Se han observado oscilaciones de la respuesta acústica en las diferentes condiciones experimentales. Los valores del TS medido a 200 kHz en condiciones de producción (representados por su mediana en un intervalo de una hora en una capa de 20 cm) demuestran que existe una relación directa entre el TS y la formación e hinchado de la vejiga natatoria.

Las medidas de control refrendan las observaciones en condiciones de producción, y permiten pensar que las ecosondas científicas se pueden convertir en una herramienta importante para el control del crecimiento de las larvas de doradas en tanques, mediante un método no intrusivo para las larvas y que no interfiere en el proceso de producción.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto ACUSTUNA ref. CTM2015-70446-R (MINECO/ERDF, EU).

REFERENCIAS

Capen, R. L. 1967. Swimbladder morphology of some mesopelagic fishes in relation to sound scattering. Naval Electron Laboratory Report, 1447, San Diego, CA.

FAO.2017. Fisheries and Aquaculture Department. Statistics - introduction, Revisado el 15 de mayo del 2017 desde: <http://www.fao.org/fishery/statistics/en>

Furusawa, M. 1989. Bubbles and underwater sounds—swimbladder and sound scattering by fish. Journal of the Marine Acoustical Society of Japan, 16: 181–196.

Georgakopoulou E., Katharios P., Divanach P. and Koumoundouros G., 2010. Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). Aquaculture 308 (2010) 13–19. 2010 Elsevier.

Kitajima, C., Iwamoto, H. and Fujita S., 1977. Relation between curvature of vertebral column and hatchery-reared undeveloped swimbladder in red sea bream, *Pagrus major*. Bull. Nagasaki Pref. Inst. Fish., 3: 23-32.

Kitajima, C., Tsukashima, Y., Fujita, S., Watanabe, T. and Yone, Y., 1981. Relationship between uninflated swimbladders and lordotic deformity in hatchery reared sea bream *Pagrus major*. Bull. Jpn. Sot. Sci. Fish., 47: 1289- 1294.

Knudsen, F.R.; Fosseidengen, J.E.; Oppedal, F.; Karlsen, O.; Ona, E., 2004. "Hydroacoustic Monitoring of Fish in Sea Cages: Target Strength (TS) Measurements on Atlantic Salmon (*Salmo Salar*)." Fisheries Research 69(2):205–9.

Kurata, M ; Seoka, M., Nakagawa Y., Ishibashi Y., Kumai H., Sawada Y., 2012. Promotion of initial swimbladder inflation in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel), larvae. Aquaculture Research, August, 2012, Vol.43(9), p.1296(10).

Puig, V.; Espinosa, V.; Soliveres, E.; Ortega, A.; Belmonte, A.; De la Gándara, F., 2012. "Biomass Estimation of Bluefin Tuna in Sea Cages By the Combined Use of Acoustic and Optical Techniques." Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT 68(1):284–90.

Puig, V, 2017. Control y Caracterización del atún rojo en jaulas marinas. Tesis Docotral. edited by Universitat Politècnica de València. Universitat Politècnica de València.

Simrad, 2008. Simrad ER60 Scientific Echo Sounder. Reference Manual.

Soliveres, E., 2015. Estimación de La Biomasa de Peces En Granjas Marinas Mediante Ultrasonidos. Tesis Docotral. edited by Universitat Politècnica de València. Universitat Politècnica de València.

Vizcaino A. J., López G., Saéz, M.I., Cerón-García M.C., Martínez T.F., Abellán E., Arizcun M., Alarcón F.J.,2016. Tetraselmis suecia and Tisochrysis lutea meal as dietary ingredients for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fry. J Appl Phycol (2016) 28:2843–2855. Springer.