

## CAPITULO 3:

### INFLUENCIA DE LA INCORPORACIÓN DE AROMA SOBRE EL CRECIMIENTO, LA SUPERVIVENCIA Y LA DISPERSIÓN DE TALLAS

<b>3.1. Alimentación y cultivo de <i>Solea</i> sp.....</b>	<b>121</b>
<b>3.1.1. Formulación de piensos para lenguado.....</b>	<b>121</b>
3.1.1.1. Requerimientos nutricionales.....	121
3.1.1.2. Características tecnológicas.....	125
<b>3.1.2. Revisión bibliográfica del cultivo de lenguado....</b>	<b>126</b>
3.1.2.1. Condiciones del medio.....	126
3.1.2.2. Crecimiento y supervivencia.....	135
<b>3.2. Objetivo del estudio.....</b>	<b>145</b>
<b>3.3. Material y métodos.....</b>	<b>146</b>
3.3.1. Muestra e instalaciones.....	146
3.3.2. Pienso experimentales utilizados y sistema de distribución del alimento.....	147
3.3.3. Recogida de datos.....	149
3.3.4. Métodos estadísticos.....	151
<b>3.4. Desarrollo de las experiencias.....</b>	<b>152</b>
<b>3.4.1. Experiencia 1: evaluación a medio plazo de la         eficacia del aroma frente a la betaína y a un pienso         comercial</b>	
3.4.1.1. Objetivo de la experiencia.....	152
3.4.1.2. Descripción de la experiencia.....	153
3.4.1.3. Resultados.....	155
<b>3.4.2. Experiencia 2: evaluación a medio plazo de la         eficacia del <i>coating</i> externo de aroma</b>	
3.4.2.1. Objetivo.....	163
3.4.2.2. Descripción de la experiencia.....	164
3.4.2.3. Resultados.....	165

---

3.4.3. Experiencia 3: seguimiento a largo plazo de un lote alimentado exclusivamente con pienso con aroma	
3.4.3.1. Objetivo.....	171
3.4.3.2. Descripción de la experiencia.....	171
3.4.3.3. Resultados.....	172
3.4.4. Experiencia 4: evaluación de la incorporación en el pienso de enzimas exógenos	
3.4.4.1. Objetivo.....	176
3.4.4.2. Descripción de la experiencia.....	176
3.4.4.3. Resultados.....	177
3.5. Discusión.....	197
3.5.1. Resultados en la fase post-destete.....	200
3.5.2. Resultados en el resto del alevinaje, pre-engorde y engorde.....	206
3.5.3. Potencial de crecimiento y supervivencia del lenguado en las condiciones del presente trabajo.....	207
3.5.4. Aspectos de manejo.....	215
3.6. Conclusiones.....	218

### **3.1. Alimentación y cultivo de *Solea* sp.**

#### **3.1.1. Formulación de piensos para lenguado**

##### **3.1.1.1. Requerimientos nutricionales**

Los requerimientos nutricionales del lenguado han sido estudiados por diversos autores. A pesar de ello el nivel de conocimiento es aún muy restringido, especialmente en comparación con otras especies que ya se encuentran en condiciones de cultivo industrial como la dorada o la lubina.

El nivel de proteína utilizado en dietas para lenguado parece ser relativamente alto en comparación con otras especies. CADENA-ROA (1983) ensaya diversas dietas en las que combina niveles crecientes de proteína con dos niveles de lípidos (8 y 16%). En general, establece un crecimiento óptimo en lenguados de 17 g, a una temperatura de 18 °C, con dietas que contienen un 57-58% de proteína y un 8% de lípidos. A partir de ese punto, la tasa de crecimiento se reduce al aumentar el porcentaje de proteínas y utilizando un contenido en lípidos del 16%. En cambio con contenidos superiores de proteína (entre el 60 y el 67,5%) y un porcentaje de lípidos del 8% se obtienen los mejores ICA. Es interesante destacar los valores de ICA obtenidos en esta experiencia. Aún considerando que están calculados utilizando el peso seco de alimento en lugar del peso fresco llegan hasta valores de 0,6 pudiéndose calificar de excelentes. El autor lo adjudica al característico comportamiento de los peces planos, mucho más pasivo que el de otras especies, lo cual se traduciría en una mayor utilización de la energía para el crecimiento.

En el mismo trabajo destaca un excelente aprovechamiento de la proteína ingerida, alcanzando valores de proteína retenida en músculo de hasta un 59%, los cuales son comparados por el autor con los registrados por otras especies, a partir de valores de la bibliografía. Los valores de proteína retenida en músculo utilizados para la comparación en dicho trabajo son del 38% para dorada, 22% para lubina y 53% para trucha (datos reportados alrededor de 1979-1982).

---

Los requerimientos en aminoácidos de *Solea* sp., a nivel cualitativo, fueron estudiados por COWEY *et al.* (1970). Utilizando el método de marcaje radioactivo, COWEY y coautores determinan que el lenguado no es capaz de sintetizar treonina, triptófano, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina. Según los datos reportados por NRC (1993) todas las especies de peces estudiadas hasta la fecha de publicación han evidenciado el mismo perfil de aminoácidos esenciales. Entre las especies estudiadas se hallan diversas especies de salmón del Pacífico (*Oncorhynchus* spp.), la trucha arco iris (*O. mykiss*), el pez gato (*Ictalurus punctatus*), diversas especies de anguila (*Anguilla* spp.), la dorada europea (*S. aurata*) y la tilapia (*Tilapia* spp.) (WILSON, 1985, NRC 1993).

Los requerimientos cuantitativos de la especie para los diferentes aminoácidos esenciales todavía no han sido determinados de forma directa. De una forma indirecta, tanto la composición aminoacídica del músculo como la del huevo pueden considerarse herramientas útiles para estudiar los requerimientos en aminoácidos de una especie, tal como demuestra KETOLA (1982) para la trucha arco iris y el salmón del Atlántico. De hecho, WILSON & COWEY (1985) concluyen que las dietas para trucha arco iris y salmón del Atlántico pueden mejorarse si se formulan simulando el perfil en aminoácidos del cuerpo del pez, lo cual lógicamente debería cumplirse para el resto de especies de peces.

La composición en aminoácidos de los huevos de *Solea solea* ha sido determinada por FLÜCHTER & TROMMSDORF (1974) con el objetivo de formular una dieta para reproductores que sea eficaz para inducir la puesta. Asimismo con el objetivo de aportar información válida para formular una futura dieta para lenguado, GARCIA-FRANQUESA (1996) analiza el perfil de aminoácidos en músculo de *Solea senegalensis* para poder establecer la relación A/E (siendo  $A/E = [\text{contenido de un aminoácido esencial} / \text{contenido de todos los aminoácidos esenciales}] \times 1000$ ) considerándose esta relación un reflejo de las necesidades en aminoácidos del pez. En dicho trabajo se pretende además evaluar la posible influencia del sexo, edad y estación del año en la proporción de aminoácidos musculares. Entre los resultados destaca la similitud del perfil de aminoácidos así como de la proporción A/E con el de otro pleuronectiforme, el fletan, exceptuando un aminoácido, la metionina. Este último es el que se encuentra en una concentración más baja, en

comparación con el resto de los esenciales. Al igual que ha quedado demostrado en otras especies como la lubina, éste podría ser el aminoácido más limitante en lenguado. Asimismo, siempre según GARCIA-FRANQUESA (1996), es el que registra una mayor influencia de la edad, el sexo y la época del año, evidenciando que podrían existir diferencias en las necesidades de este aminoácido dentro de una misma población.

El nivel total de lípidos en la dieta parece afectar poco a los resultados obtenidos con diferentes piensos para lenguado según METAILLER & GIRIN (1976) y en general los valores recomendados son bastante bajos (del orden de 12-14%). CADENA-ROA (1983) coincide en señalar que un porcentaje de lípidos del 16% se demuestra excesivo para la especie, destacando la reducida deposición de lípidos corporales o reservas grasas, la cual se mantiene constante utilizando dietas con un 8 o un 16% de contenido lipídico. No obstante indica la necesidad de un estudio más exhaustivo para establecer los niveles adecuados de lípidos.

Cabe señalar que, en general, en formulación de piensos para peces, los niveles de lípidos utilizados en la década de los 80 se han incrementado notablemente durante los 90 y hasta la actualidad, en parte por una optimización de la tecnología de fabricación de piensos y en parte por una formulación más equilibrada y ajustada a las necesidades de los peces en cada momento. Como consecuencia, incluso especies magras, como la dorada y la lubina cuyo metabolismo lipídico sería similar al del lenguado, están recibiendo en la actualidad piensos con porcentajes de grasa superiores al 20% sin perjuicios para su salud. Es posible que estos mismos cambios fuesen aplicables en la actualidad a las dietas para lenguado.

Hasta hace poco tiempo no existían estudios específicos sobre las necesidades de ácidos grasos para los Soleidos, suponiéndose un requerimiento, al igual que en el resto de peces marinos, por las formas más insaturadas de la serie  $\omega 3$ . No obstante, actualmente existen opiniones contradictorias sobre este punto. Por una parte HOWELL & TZOUMAS (1991) indican que el requerimiento nutricional del lenguado por los ácidos grasos insaturados  $\omega 3$  es menos estricto que el de otras especies de peces marinos. En su trabajo concluyen que, en efecto, existe un requerimiento esencial por el ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5( $\omega 3$ )), mientras que se pueden conseguir tasas de supervivencia elevadas con dietas prácticamente deficientes en ácido docosahexanoico (DHA, 22:6( $\omega 3$ )). Por el contrario,

---

NARCISO *et al.* (2000) han reportado la existencia de un perfil de ácidos grasos muy específico en huevos de lenguado senegalés, debido a una ratio DHA/EPA muy elevada ( $> 4$ ) en comparación con *Sparus aurata* y *Pagrus pagrus* (alrededor de 2). De acuerdo con estos resultados, los autores plantean la necesidad de un enriquecimiento muy específico en las dietas de larvas de lenguado para satisfacer este elevado requerimiento en ácidos grasos.

El nivel de glúcidos tolerado por los lenguados parece superior al de otras especies marinas. Los estudios realizados por CLARK *et al.* (1984) demuestran que un homogeneizado obtenido a partir de intestino de lenguado (*Solea solea*) tiene la capacidad de hidrolizar polisacáridos del tipo del almidón y la quitina hasta sus respectivas unidades de monosacáridos. Según dichos autores, esta capacidad enzimática, proporcionada por quitinasas y quitobiasas, podría deberse a la necesidad de digerir las estructuras externas de los crustáceos que contienen elevadas cantidades de quitina. Asimismo la destacada presencia de  $\alpha$ -amilasas y  $\alpha$ -glucosidasas demuestra la capacidad de digerir almidón y glucógeno, éste último también abundante en crustáceos. Este equipamiento enzimático podría hacer pensar que el aprovechamiento que los lenguados realizan de los carbohidratos incluidos en los piensos, sea elevado en comparación con el resto de especies en cultivo. Incluso el rodaballo, a pesar de pertenecer al mismo Orden, parece incapaz de utilizar los glúcidos con la misma eficiencia que el lenguado, probablemente debido a su diferente perfil trófico en el medio natural.

Con el fin de establecer el nivel adecuado de carbohidratos en la dieta, CADENA-ROA (1983) incorpora dextrina como fuente de glúcidos y detecta una cierta reducción en la retención de proteína con porcentajes de dextrina superiores al 20%. El lenguado parece capaz de reemplazar en cierta medida la energía que obtendría de una parte de la proteína, por los glúcidos. Según el autor esta substitución tendría como consecuencia un menor aprovechamiento de la proteína afectando la digestibilidad del conjunto de la dieta, debido a un mayor aporte energético. A partir de una tasa de incorporación de dextrina del 40% se registra una cierta reducción del crecimiento, lo cual establecería en este porcentaje el límite superior de incorporación. Pero ni siquiera a este elevado nivel de glúcidos detecta problemas metabólicos en el periodo de duración de la experiencia (8 semanas).

De acuerdo con todo ello, CADENA-ROA (1983) recomienda, para obtener una máxima utilización de la energía en lenguados, una dieta que incluya alrededor del 60% de proteína, un 8% de lípidos y una tasa máxima de carbohidratos del 20%. Por otra parte, METAILLER (1990) propone una dieta rehidratable cuyo análisis proximal final muestra un contenido de proteína del 53,3% de proteína, un 11% de lípidos; no se especifica el contenido de lípidos pero de la composición indicada se infiere que se halla un poco por debajo del 20%.

Los requerimientos específicos de vitaminas y minerales se desconocen y en su defecto se emplean los valores conocidos para otras especies en cultivo.

### **3.1.1.2. Características tecnológicas**

La conducta frente al alimento de cada especie condiciona en gran manera las características tecnológicas del pienso a administrar. El lenguado se caracteriza por unos hábitos alimentarios nocturnos y lentos, tal como se ha descrito ampliamente en el capítulo 1. En este caso, es imprescindible que el pienso tenga una elevada estabilidad en el agua de tal modo que pueda permanecer largo tiempo en inmersión sin perder sus características nutricionales. Asimismo, no se requiere que las partículas tengan flotabilidad, al contrario de lo que sucede con la mayoría de especies de cultivo, ya que la ingesta se va a producir básicamente en el fondo del tanque.

Ambos parámetros, estabilidad y flotabilidad, pueden ajustarse y modificarse de acuerdo con la especie a alimentar. En primer lugar, la elección de la tecnología de fabricación más adecuada es determinante para optimizar las características de las partículas de pienso. Hoy por hoy la extrusión ofrece las máximas posibilidades, aportando la máxima estabilidad en el agua además de una elevada durabilidad y permitiendo ajustar el nivel de flotabilidad a los requerimientos de la especie (ROSELL, 1994). La composición del pienso es el segundo factor decisivo para conseguir unas buenas características tecnológicas. Tanto la incorporación de materias primas con buenas características de compactación (por ejemplo los cereales) como la adición de sustancias aglomerantes (lignosulfonatos, bentonitas,...) pueden colaborar a aumentar la estabilidad del pienso (LUQUET & RUMSLEY, 1978).

---

### 3.1.2. Revisión bibliográfica del cultivo de lenguado

#### 3.1.2.1. Condiciones del medio

A partir de la información aportada por diferentes autores sobre los niveles de diversos parámetros ambientales que resultan óptimos y letales para los Soleidos, se pueden establecer las condiciones adecuadas para un potencial cultivo del lenguado. Para ello se relacionan a continuación las informaciones más relevantes a este respecto.

##### *Temperatura*

FONDS (1975) establece el rango de temperatura para la supervivencia de *Solea solea* entre 3 y 30°C. Dentro de los límites establecidos por este rango, la tasa de crecimiento se encuentra positivamente correlacionada con la temperatura, del siguiente modo

$$dL/dt \text{ (cm/mes)} = 0,13 T \text{ (}^\circ\text{C)} - 0,70$$

$$K \text{ (=dlnP/dt)} = 0,03 T \text{ (}^\circ\text{C)} - 0,13$$

siendo *L* longitud total en cm, *K* tasa de crecimiento específico, *P* peso en g, *t* tiempo en meses y *T* temperatura en °C

Utilizando dicha ecuación se estima que el crecimiento del lenguado se detiene aproximadamente entre 4,3 y 5,4°C.

LIEWES (1984) recoge información aportada por diversos autores sobre el rango óptimo para crecimiento de *S. solea*. Según el autor, en peces más jóvenes la tasa de crecimiento aumenta con la temperatura en el rango entre 10 y 25 °C. En peces más grandes, el rango óptimo se sitúa entre 10 y 15 °C, aunque para cultivos comerciales recomienda 18 °C. Coincide con FONDS (1975) en señalar que el crecimiento se detiene alrededor de los 5-6 °C y establece los límites letales en 3-4 °C y 31,9-32,5 °C.

##### *Salinidad*

FONDS (1975) estudia la influencia de la salinidad en el crecimiento de *S. solea* y determina los niveles letales para este parámetro. Los resultados obtenidos indican que el crecimiento no se ve afectado por

salinidades entre 10 y 40‰ mientras que desciende sensiblemente a partir del 60‰ de salinidad, rango que denota una elevada eurihalinidad.

En la experiencia se utilizan lenguados adaptados a diversos niveles de salinidad que evidencian diferentes resistencias a los niveles letales, de tal modo que los peces adaptados a salinidades elevadas (60‰) sufren anorexia e incremento de la mortalidad por debajo de 4,5‰, mientras que peces adaptados a bajas salinidades (10‰) sólo empiezan a sufrir las mismas consecuencias cuando la salinidad se sitúa por debajo de 1,6‰. Estas diferencias indican la excelente capacidad de la especie para adaptarse a diferentes salinidades.

En el extremo opuesto la supervivencia se mantiene hasta el 68‰ de salinidad. A partir de este nivel la mortalidad empieza a incrementar, particularmente a partir de 74‰.

### *Oxígeno*

Los peces planos, debido a su hábitat y estilo de vida, con frecuencia se hallan sometidos a las graves situaciones de hipoxia que se producen en el estrato béntico durante el período estival. En dichas situaciones, las especies que tienen capacidad migratoria suelen utilizar una estrategia de huida. Pero los peces planos tienen una capacidad motriz limitada, no solamente por su flotabilidad negativa sino también porque son nadadores poco eficientes, por lo cual su natación aeróbica queda restringida a unos pocos minutos. Además, generalmente las zonas anóxicas ocupan superficies demasiado amplias para que los peces planos puedan recorrerlas y huir.

VAN DEN THILLART *et al.* (1994) han estudiado la sensibilidad a la hipoxia prolongada de *S.solea* determinando la concentración de oxígeno que consideran *nivel limitante* para la especie. Asimismo determinan el *nivel letal incipiente* para el oxígeno, en el cual el potencial de actividad es cero o en el cual la tasa metabólica en actividad (AMR, Activity Metabolic Rate) se iguala con la tasa metabólica standard (SMR, Standard Metabolic Rate) para la especie. Para una aplicación práctica, JOBLING (1994), generalizando a cualquier factor ambiental, define el *nivel letal incipiente* como ‘una estimación de la dosis que, en teoría, el 50% de la población podría tolerar durante un período de tiempo indefinidamente largo’.

---

De los resultados de dicho trabajo se extrae que el lenguado (*S. solea*) tiene una tasa metabólica standard relativamente baja, incluso a temperaturas elevadas (19 °C). Los valores medios de SMR registrados, expresados en consumo de oxígeno, se hallan alrededor de 4,1 mg O<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, mientras que los valores registrados y calculados para la máxima actividad se encuentran alrededor de 20 mg O<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

De forma adicional, el lenguado parece tener la capacidad de reducir su tasa metabólica por debajo de la SMR habitual, al igual que otros animales que pueden tolerar condiciones ambientales muy extremas. Esta capacidad se refleja en una producción moderada de lactato en condiciones de hipoxia y anoxia. Mientras que en los peces que no tienen esta capacidad, en situación de déficit de oxígeno, se produce un cambio del metabolismo aerobio al anaerobio, con la consecuente acumulación de lactato.

Considerando estos niveles de SMR, VAN DER THILLART y coautores (1994) establecen como nivel limitante de concentración de oxígeno para lenguado un porcentaje de saturación entre 40 y 60% (3,2 y 4,8 mg l<sup>-1</sup> respectivamente, a la temperatura de la experiencia, 19°C). Por debajo del 40% de saturación, los peces empiezan a reducir su actividad metabólica. Entre el 12 y el 6% (1,0 y 0,5 mg l<sup>-1</sup>, a 19 °C) empieza a reducirse la tasa metabólica y a incrementar la concentración de lactato, indicando la activación del metabolismo anaerobio. Los mismos autores describen los cambios en la conducta de *S.solea* en una situación de hipoxia gradual (DALLA VIA *et al.*, 1998). En dicho trabajo, por debajo del 5% de saturación, se registra una clara conducta de huida como última respuesta cuando otras estrategias de ahorro de energía (metabolismo anaeróbico y reducción o depresión de la tasa metabólica) parecen ser insuficientes. Por debajo del 3% de saturación, el lenguado evidencia una pérdida de equilibrio y movimientos descoordinados, quedándose finalmente paralizado sobre el fondo.

De acuerdo con todo ello los autores recomiendan que de forma genérica el 40% de saturación se considere el *nivel limitante* para lenguado, mientras que el *nivel letal incipiente*, es decir el que podría ser tolerado por el 50% de la población de forma crónica, se situaría entre un 20 y un 12% de saturación.

*Compuestos nitrogenados*

Siendo el amoníaco el principal producto de excreción de los peces y dada su elevada toxicidad para los mismos, es interesante conocer la sensibilidad a dicho compuesto de las potenciales especies de cultivo.

ALDERSON (1979) establece el umbral de toxicidad del amoníaco no ionizado para lenguados de 1 a 3 g (*S. solea*) en 0,066 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup>, (16 °C, 34‰ salinidad) considerando que, hasta este nivel, el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no produce efectos negativos sobre el crecimiento de los peces o los produce a una escala muy reducida. A partir de la citada concentración se establece una depresión del crecimiento relacionada linealmente con el incremento de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Adicionalmente, cuanto más bajo es el pH mayor es la reducción del crecimiento, de tal modo que a un pH de 7,9 la concentración a la cual el crecimiento es nulo es de 0,77 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup>, mientras que a un pH de 6,9 una concentración de 0,38 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> l<sup>-1</sup> es suficiente para inhibir por completo el crecimiento. Este resultado parece contradictorio con la dinámica de disociación del amoníaco, que a pH más altos tiende a la formación de NH<sub>3</sub> (más tóxico para los peces) mientras que a pH más bajos tiende a formar NH<sub>4</sub><sup>+</sup> cuya toxicidad es inferior. Según los autores es posible que a valores bajos de pH se produzcan efectos combinados con la concentración de CO<sub>2</sub>, que puede ser en muchas ocasiones, causante de la reducción del pH. Para dilucidarlo serían necesarios estudios más exhaustivos sobre el tema que permitiesen individualizar el efecto de los distintos factores.

La mortalidad registrada durante la experiencia de ALDERSON (1979) es muy baja, e incluso a las concentraciones más elevadas no se observan lesiones branquiales. Según el autor, todo ello sugiere una tolerancia al compuesto superior a la de otras especies en cultivo. De hecho esta elevada tolerancia podría deberse a que la tasa de renovación del agua durante el ensayo es relativamente elevada y por tanto el ambiente se mantiene muy limpio de otros compuestos, partículas en suspensión, etc. A las concentraciones más elevadas sí se observan cambios en la conducta, traducándose especialmente en anorexia y natación descoordinada.

Los resultados de PARRA & YÚFERA (1999), obtenidos con larvas de *Solea senegalensis*, parecen ratificar los resultados de

---

ALDERSON indicando una elevada tolerancia a los compuestos nitrogenados por parte de los Soleidos en comparación con *Sparus aurata*. Los autores sugieren la posibilidad de que dicha tolerancia se halle asociada a una mayor cantidad de mucus en la piel de los lenguados. Aunque los resultados son difíciles de comparar, dado que el trabajo se ha realizado con larvas de 7 días de vida y además los datos se expresan de forma diferente, la conclusión sería que las larvas de *S.senegalensis* toleran durante 24 h valores de nitritos de hasta 2000 ppm sin que se registre mortalidad, lo cual indicaría un nivel de resistencia al compuesto extremadamente alto. Asumiendo el criterio de que el 10% de la LC<sub>50</sub> a 24 h puede considerarse un valor recomendable para cultivo, la concentración adecuada de NH<sub>3</sub> para un posible cultivo de lenguado sería de 0,133 ppm, una concentración también elevada en comparación con las recomendadas para otras especies.

### *Densidad*

El número de animales susceptibles de ser mantenido en condiciones de cultivo, es un parámetro que va más allá de la simple disponibilidad de alimento, ya que puede modificar las interacciones sociales, acentuar la competencia entre individuos, dificultar el acceso al alimento, al espacio, etc. Los datos reportados en la bibliografía sobre la densidad adecuada para lenguado son muy diversos y, por lo general, relativamente bajos. La excepción a esta tendencia es la información aportada por LIEWES (1984) que propone densidades de hasta 50-70 kg m<sup>-3</sup>, aunque por cuestiones de orden práctico recomienda no superar los 20-30 kg m<sup>-3</sup>, todo ello sin especificar la talla de los animales ni la superficie.

En el caso de los reproductores diversos autores coinciden en establecer la densidad máxima recomendada en 1,5 kg m<sup>-2</sup> para *Solea senegalensis* (VAZQUEZ *et al.*, 1995; DINIS *et al.*, 1999), considerando que los reproductores utilizados tienen pesos entre 400 y 1500 g.

Para la fase de destete, también en *S.senegalensis*, ESTEBAN *et al.* (1995) establecen densidades alrededor de 0,5 kg m<sup>-3</sup>. Para la misma especie e individuos entre 3 y 18 g de peso, se utilizan densidades entre 1 y 1,5 kg m<sup>-3</sup>.

En alevines de *Solea solea* después del destete, MORINIÈRE (1983) establece 3 densidades diferentes para individuos de 2,5 g, aproximadamente 1,5 kg m<sup>-3</sup>, 3 kg m<sup>-3</sup> y 6 kg m<sup>-3</sup>. Por encima de 9 y 13 kg

m<sup>-3</sup> (equivalente a 3 y 4 kg m<sup>-2</sup> en las condiciones de la experiencia) registra una cierta reducción de la tasa de crecimiento, pero alcanza una densidad de hasta 32 kg m<sup>-3</sup> con una supervivencia muy elevada (89%) y una tasa de crecimiento solamente un 10% inferior a la obtenida en la carga más baja (5 kg m<sup>-3</sup>). El autor sugiere que posiblemente la reducción del crecimiento ligada a las elevadas densidades, se debe más a la inaccesibilidad al alimento que a una intolerancia real a la densidad, ya que ni la supervivencia ni el comportamiento de los individuos se ven afectados. Por este motivo, propone un incremento de los puntos de alimentación en condiciones de densidad elevada para evitar la reducción del crecimiento.

ESTEBAN *et al.* (1997) aportan diversos valores de densidad de cultivo para *Solea senegalensis*. En peces de unos 18 g de peso establecen densidades iniciales de 2,5 y 7,8 kg m<sup>-3</sup> y la tasa de crecimiento obtenida al cabo de 48 días es prácticamente la mitad en el tanque con la densidad superior que en el tanque de menor densidad. En diferentes lotes alcanzan densidades máximas de 9,5 kg m<sup>-3</sup> (99 g de peso) y 10,5 kg m<sup>-3</sup> (25 g de peso) sin que parezca apreciarse una reducción significativa en el crecimiento respecto a otros lotes menos densos. Los autores destacan en este trabajo la gran capacidad del lenguado para tolerar el hacinamiento, aunque también comentan un incremento de la actividad a cargas elevadas especialmente cuando la superficie es reducida. A igualdad de densidad, en superficies de 1m<sup>2</sup> el incremento de la actividad se produce durante todo el día, observándose la ocupación no sólo del fondo sino de las paredes, mientras que en una superficie de 10 m<sup>2</sup>, solamente aumenta la actividad nocturna.

### *Caudal*

LIEWES (1984) recomienda la utilización de un caudal relativamente reducido para lenguados, considerando que el caudal habitual de los tanques autolimpiables utilizados para otras especies resulta estresante. Según el mismo autor, el caudal medio habitual en las instalaciones de experimentación de la *White Fish Authority* (Hunterston) para lenguado oscila alrededor de 30 litros por hora y kilo de biomasa, sin que se indique la densidad, y señala que se puede establecer como caudal mínimo 15 litros por hora y kilo de biomasa.

---

### *Substrato*

El hábitat característico del lenguado en el medio natural está constituido por fondos arenosos (KRUUK, 1963). La tendencia a enterrarse en la arena con la finalidad de evitar las posibles agresiones es un instinto innato en los lenguados que no desaparece aunque los individuos se mantengan en cautividad. Incluso lenguados obtenidos en *hatchery* que nunca han estado sobre fondos arenosos y que no tienen ninguna experiencia sobre cómo enterrarse, lo hacen inmediatamente en cuanto se les coloca sobre un substrato de arena (ELLIS *et al.* 1997).

De acuerdo con estas informaciones, los primeros cultivos de lenguado se establecieron utilizando substratos arenosos. Este hecho complicaba mucho el manejo y por ello se desarrollaron diversas experiencias con el objetivo de evaluar el crecimiento y la supervivencia sin dicho substrato. FUCHS (1981/1982b) demuestra que es posible cultivar lenguados de 1 a 3 meses de edad en tanques de fondo desnudo sin una reducción significativa del crecimiento ni de la supervivencia. Por el contrario CARBÓ (1994) reporta un crecimiento significativamente mejor en individuos mantenidos con fondo de arena, utilizando lenguados procedentes del medio natural (*S. senegalensis*) de entre 70 y 220 g de peso, aunque el período experimental es relativamente corto (60 días). Además de un crecimiento más lento, los lenguados mantenidos sin arena en el fondo muestran un comportamiento agitado y una peor respuesta a la alimentación.

En los trabajos de FUCHS (1981/1982b) el problema que parece surgir con relativa frecuencia es la aparición de un tipo determinado de necrosis en la piel y las aletas, necrosis que no aparece en los individuos mantenidos sin arena en el trabajo de CARBÓ (1994), quizás por el período experimental transcurrido.

De hecho, cuando los cultivos experimentales de lenguado sobre fondo desnudo se generalizan, se extiende este tipo de necrosis, ocasionando mortalidades importantes. Este síndrome recibe el nombre popular de 'Black Patch Necrosis' (BPN) a partir de la descripción, realizada por McVICAR & WHITE (1979), de su pauta de desarrollo síndrome e histopatología. El agente etiológico asociado no se determina hasta unos años después (CAMPBELL & BUSWELL, 1982), pero de forma

simultánea a la descripción del síndrome, McVICAR & WHITE (1979) ya apuntan la importancia de la presencia de arena tanto para prevenir como para curar la enfermedad. En trabajos posteriores se establece por completo la utilidad de la arena como agente profiláctico y terapéutico del síndrome BPN (McVICAR & WHITE, 1981/1982; McVICAR, 1987).

En efecto, MORINIÈRE (1983) inicia sus experiencias estabulando *S. solea* en tanques de fondo desnudo y tanques con fondo de arena y aparecen dos enfermedades, BPN y una forma de granuloma. En el caso del síndrome BPN la incorporación de una capa de arena de 1-3 cm de espesor detiene la mortalidad en menos de 8 días. En el caso del granuloma la mortalidad es del 75% en los tanques de fondo desnudo y solamente del 25% en los tanques con arena. El autor considera que la seguridad que aporta la arena frente a las enfermedades bacterianas compensa las posibles dificultades de manejo, por lo cual recomienda su uso al menos durante el primer año de vida.

Otros autores defienden la incorporación de un substrato arenoso atendiendo al comportamiento del lenguado y a su adaptación al medio. PEYRAUD & LABAT (1962) describen un incremento en la tasa cardiorrespiratoria y en la reacción a estímulos externos en lenguados que no tienen la posibilidad de enterrarse en la arena, evidenciado un nivel elevado de estrés. En el mismo sentido, HOWELL & CANARIO (1987) registran un incremento significativo de la tasa metabólica en juveniles de *Solea solea* mantenidos sobre fondo desnudo. En dicho trabajo se detecta un incremento de la tasa metabólica en reposo en ausencia de fondos arenosos, desde valores alrededor de  $4 \text{ mg O}_2 \text{ 100 g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , hasta valores próximos a  $7,7 \text{ mg O}_2 \text{ 100 g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Cualitativamente, se observa asimismo un esfuerzo reiterado de los peces por enterrarse, mostrándose, por tanto, mucho más activos que los peces que disponen de un substrato arenoso.

ESTEBAN *et al.* (1997) describen la presencia de deformaciones callosas en la base de la aleta caudal de *Solea senegalensis* mantenidos sobre fondo desnudo, que también atribuyen a un intento reiterado de los animales por enterrarse.

Por último, DINIS *et al.* (1999) indican que el color del fondo de los tanques ha sido identificado como responsable de las anomalías de pigmentación en *S. solea*. Según los mismos autores algunos experimentos

---

recientes parecen sugerir la misma asociación en *S. senegalensis*. Estos problemas de pigmentación, que son reversibles en rodaballo pero no en lenguado, hoy por hoy no representan un problema importante para la comercialización, ya que sólo afectan al 5% de los lenguados producidos en *hatchery*. Pero si el problema puede resolverse, o al menos minimizarse, utilizando el substrato adecuado, merecerá la pena plantear la incorporación de un fondo arenoso, similar al del hábitat natural de la especie.

Similares problemas con la pigmentación se han descrito para otras especies de peces planos posibles candidatos al cultivo comercial, apuntándose diversas causas ambientales, nutricionales y neurológicas que podrían justificarlos (VENIZELOS & BENETTI, 1999). Como ejemplo, OTTESEN & STRAND (1996) han descrito hiperpigmentación y lesiones muy características en la cara ciega de fletanes (*Hippoglossus hippoglossus*) mantenidos en fondos blandos sin arena, lesiones que además provocan menores tasas de crecimiento y acaban facilitando la entrada de infecciones secundarias. Los resultados sugieren, al igual que ha quedado demostrado en lenguado, que un substrato arenoso puede tener efectos profilácticos, aunque curiosamente en este trabajo los mejores resultados de crecimiento no se obtienen con este tipo de substrato. Los autores sugieren una mala calidad de agua asociada a la presencia de un fondo arenoso que complica la limpieza del tanque. Teniendo en cuenta esta última consideración, es importante plantear rutinas de limpieza eficientes, aún con fondo de arena, para poder aprovechar las ventajas que la presencia de substrato parece ofrecer.

#### *Tasa de alimentación*

Dado que el lenguado es una especie que aún no se ha mantenido en cultivo durante largo tiempo y en diferentes condiciones, existen pocos trabajos que tengan como objetivo fijar las tasas de alimentación más adecuadas.

El trabajo más extenso sobre ello es el desarrollado por FONDS & SAKSENA (1977). En dicho trabajo el alimento utilizado es mejillón fresco, con lo cual los valores numéricos obtenidos de tasa de alimentación son difíciles de extrapolar al pienso seco. A pesar de ello, alguna de las conclusiones del trabajo es aplicable a las condiciones actuales. Quizás la más interesante hace referencia a las temperaturas a las cuales se

produce la máxima ingesta en lenguados. La conclusión de FONDS & SAKSENA a este respecto, indica que los lenguados más jóvenes (hasta unos 10 g de peso individual) muestran una ingesta diaria máxima a temperaturas elevadas (hasta 26°C), mientras que lenguados mayores (por encima de 100 g de peso individual) ingieren la máxima cantidad de alimento a temperaturas más bajas (14-16°C).

Es preciso destacar también del trabajo de dichos autores, que por debajo de 10°C, parece que no existe ingesta voluntaria de alimento por parte de los lenguados.

Tratándose de piensos secos, LIEWES (1984) propone, a una temperatura de 18 °C, una tasa de alimentación diaria del 5% del peso vivo para lenguados entre 1,5 y 5 g de peso individual, 4% para lenguados entre 5 y 100 g y 3% para peces con un peso individual superior a 100 g.

### **3.1.2.2. Crecimiento y supervivencia**

#### *Crecimiento*

Los resultados publicados hasta el presente momento en la bibliografía sobre el potencial de crecimiento de *Solea* sp. son relativamente dispersos y por lo mismo poco concluyentes. La mayor parte de resultados hacen referencia a la fase de destete, tradicionalmente la más problemática para la especie, y a *Solea solea*. Dados los problemas en la transición de presa viva a pienso, existen menos trabajos orientados a evaluar el crecimiento en las fases de pre-engorde y engorde. Asimismo el hecho de que la nutrición de la especie sea un problema aún sin resolver completamente, afecta los resultados obtenidos e impide extraer conclusiones definitivas sobre el auténtico potencial de crecimiento de los Soleidos en condiciones de cautividad.

A continuación se presentan resultados publicados por diversos autores que permiten establecer comparaciones con los que se obtengan en el presente trabajo. En primer lugar se aportan datos de crecimiento en el medio natural o en condiciones extensivas, sin utilización de alimento externo. Estos resultados constituyen una importante información de referencia para evaluar el crecimiento del lenguado en condiciones de cultivo. Posteriormente se presentan diversos datos

referentes a crecimiento de lenguado en condiciones de cultivo, tanto extensivo como intensivo.

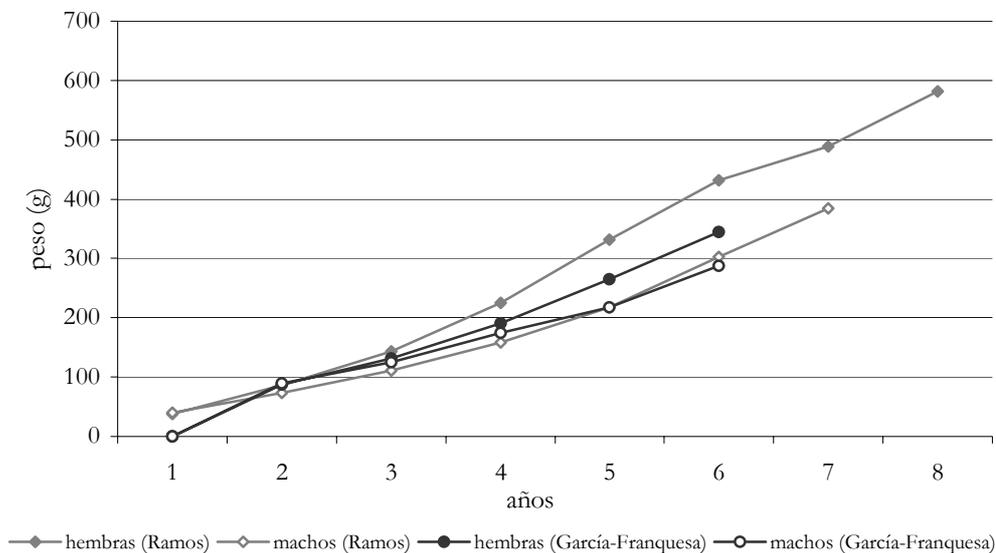


Fig. 3.1. Pesos medios según sexo y edad, observados por RAMOS (1982) en la costa de Castellón, en ejemplares de *S. solea*, y por GARCIA-FRANQUESA (1996) en el Delta de l'Ebre, en *S. senegalensis*.

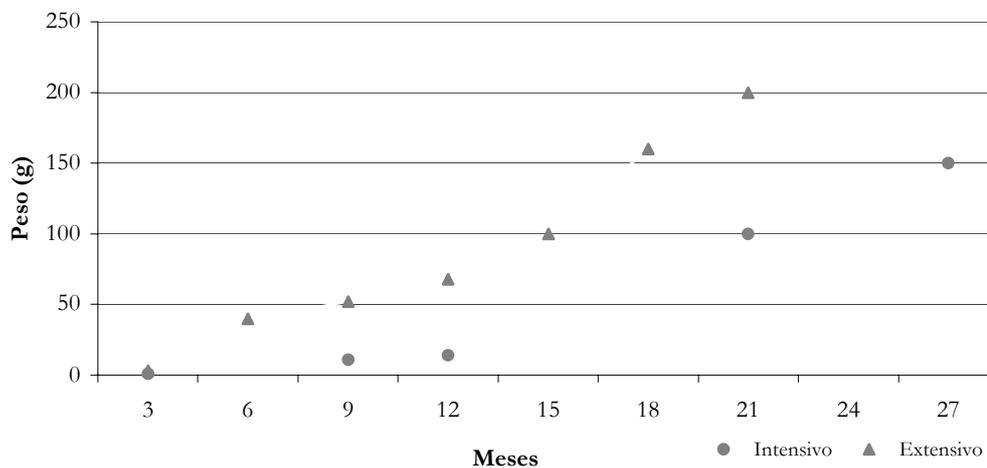


Fig. 3.2. Pesos medios, observados por MORINIÈRE (1983) en la Bretaña Occidental, en ejemplares de *Solea solea*, en condiciones de cultivo intensivo y agua no termorregulada, y en condiciones de extensivo.

En la Fig.3.1. se expresan gráficamente los crecimientos registrados por RAMOS (1982) en *S. solea* en la costa de Castellón y los registrados por GARCIA-FRANQUESA (1996) en lenguado senegalés (*S.*

*senegalensis*) en el Delta de l'Ebre. Se establece la separación por sexos ya que las hembras evidencian un crecimiento más rápido que los machos.

En la Fig. 3.2. se expresan los resultados de crecimiento reportados por MORINIÈRE (1983) con *S.solea* en condiciones de cultivo intensivo en agua con termoperíodo natural y en condiciones de cultivo extensivo en una laguna costera, ambos casos en la Bretaña Occidental. Curiosamente los resultados obtenidos en el cultivo extensivo son mucho mejores que los obtenidos en condiciones intensivas. El autor matiza que la laguna costera utilizada parece tener unas buenas condiciones naturales para el engorde de lenguados, probablemente debido al tipo de alimentación disponible. Los resultados reportados por DINIS *et al.* (1999) en la costa del Sur de Portugal utilizando condiciones de extensivo son un poco menos interesantes ya que al cabo de un año los lenguados solamente alcanzan un peso medio de 40 g. En cambio cuando en la misma zona y el mismo tipo de instalación se mantienen lenguados en policultivo con dorada aportando pienso para complementar la alimentación natural del estanque, se obtienen resultados excelentes alcanzando más de 450 g de peso en un año. Todo ello indicaría que existe aún un gran margen para la optimización de la alimentación y los métodos de cultivo en general.

También con una alimentación propia de un sistema extensivo, basada en presas vivas o material fresco, dos autores (IRVIN, 1973; FONDS 1975) establecen la tasa de crecimiento del lenguado (*S.solea*) en relación con la temperatura de cultivo. La alimentación basada en presas vivas, aunque el perfil trófico no sea exactamente el que el lenguado tendría en su hábitat natural, debería proporcionar una tasa de crecimiento máxima, en teoría superior a la que proporcionaría un pienso, dado el nivel de conocimiento disponible en ese momento de los requerimientos nutricionales de la especie. Cada uno de dichos autores define una ecuación que explica la interacción entre ambos parámetros, a saber, crecimiento y temperatura. Los resultados obtenidos por uno de ellos, FONDS (1975), han sido tratados en el apartado anterior ya que proporcionan el rango de temperatura óptimo para el crecimiento y la supervivencia. FONDS utiliza individuos de 12-15 cm capturados en el medio natural y los alimenta a base de *Arenicola marina* y mejillón fresco. El otro autor, IRVIN (1973), utiliza alevines de 5 cm obtenidos en hatchery y los alimenta con el oligoqueto *Lumbricillus rivalis*.

Los resultados de IRVIN muestran una relación aproximadamente lineal entre la tasa de crecimiento en mm/mes y la temperatura, desde valores de 9 a 31 mm/mes y entre 11 y 19°C. Esta relación está representada por la siguiente ecuación

$$Lr \text{ (mm/mes)} = 2,7 T - 21,9 \text{ (} r^2 = 0,99; p < 0,01 \text{)}$$

siendo  $Lr$  tasa de crecimiento en longitud expresada en mm/mes y  $T$  temperatura en °C.

Los resultados de FONDS, por otra parte, no muestran un crecimiento tan activo pero ambos autores coinciden en indicar que los juveniles de lenguado tendrían su temperatura óptima de crecimiento aproximadamente entre 23 y 25°C.

HOWELL (1997) utiliza los resultados de dichos autores para estimar el crecimiento de lenguados hasta talla comercial. En la Fig. 3.3., la gráfica construida por HOWELL muestra la relación entre la tasa de crecimiento en longitud y la temperatura para juveniles de *S.solea* calculada a partir de los datos de ambos autores. Tomando los valores de IRVIN a 19°C y los de FONDS a 20°C, HOWELL concluye que individuos de 5 cm de longitud alcanzarían la talla comercial de 24 cm (125 g) en menos de 300 días si se mantuviesen a temperaturas próximas al óptimo (23-25°C). HOWELL apunta la posibilidad de que la amplia diferencia existente entre el potencial de crecimiento reportado por ambos autores se deba a la calidad de la alimentación o a la disponibilidad de alimento. Si esto fuese cierto, la conclusión podría ser que con una dieta adecuada el crecimiento podría ser aún más rápido, consiguiendo la talla comercial en un período aún más corto.

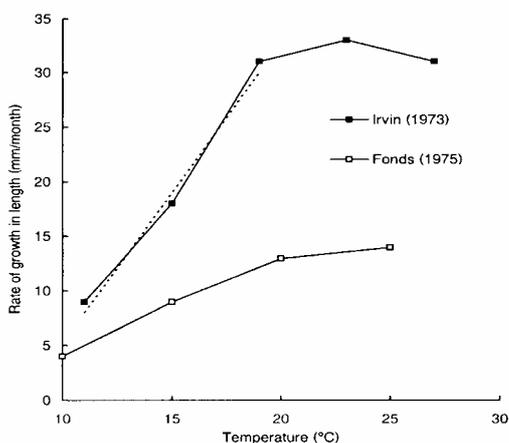


Fig.3.3. Relación entre tasa de crecimiento en longitud y temperatura para juveniles de lenguado calculada a partir de los datos de IRVIN (1973) y FONDS (1975). Para los datos de IRVIN se muestra también la regresión de la tasa de crecimiento en función de la temperatura para temperaturas entre 11 y 19°C (línea de puntos) (HOWELL, 1997).

Se utiliza también como referencia la recopilación realizada por GUINEA (1989) Este autor, utilizando datos aportados por diversos autores, estima las tasas de crecimiento específicas para lenguados a lo largo del ciclo vital y a diversas temperaturas. Empleando dicha información, se calcula el crecimiento esperado para lenguados a partir de 0,2 g de peso individual (post-destete) a 15, 20 y 25°C, lo cual se expresa gráficamente en la Fig.3.4.

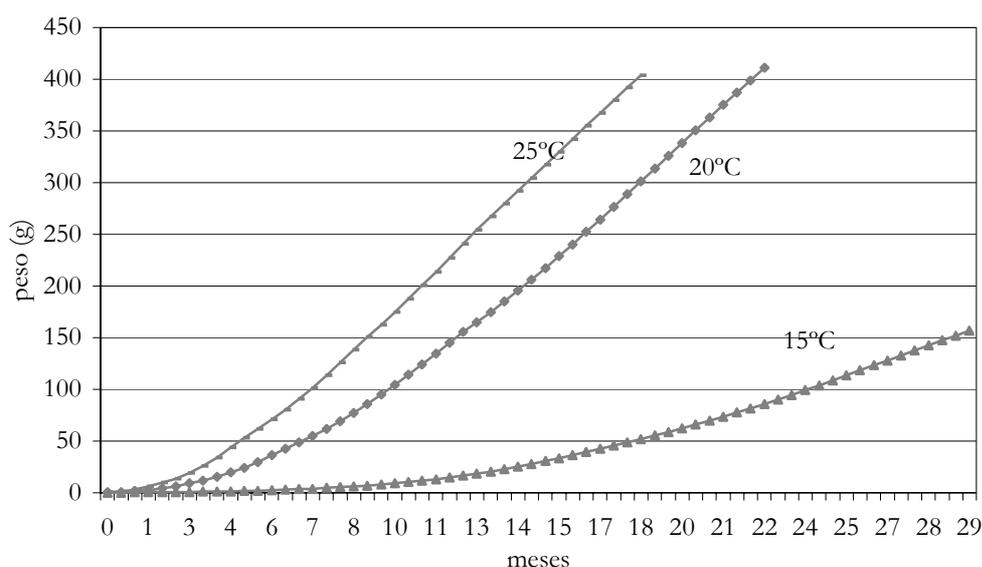


Fig. 3.4. Crecimiento esperado según GUINEA (1989) para lenguados a partir de 0,2 g de peso inicial a 15, 20 y 25°C constantes.

Al igual que en el trabajo de HOWELL (1997), para estimar el período necesario hasta conseguir la talla comercial se considera la temperatura constante durante todo el período y de acuerdo con ello, el crecimiento calculado según GUINEA parece superior al estimado por HOWELL, a partir de los datos de IRVIN (1973) y FONDS (1975). Respecto a la temperatura óptima para el crecimiento, existiría consenso entre los autores discutidos aquí ya que al calcular el período necesario para talla comercial a 15°C se observa una caída drástica del ritmo de crecimiento. Las diferencias registradas entre diversos autores indicarían de nuevo que existe un amplio margen para la mejora, probablemente ligado a la optimización de la alimentación, tanto en lo que respecta a calidad de las dietas como a disponibilidad de alimento.

En la Tabla III.1. se relacionan resultados de crecimiento reportados en la bibliografía por diferentes autores y en diferentes condiciones.

Tabla III.1. *Crecimiento de lenguados (S.solea y S.senegalensis) mantenidos en diversas condiciones según diversos autores. Para cada caso se calcula para esta revisión la tasa de crecimiento específica de acuerdo con la expresión ( $G = (\ln Pf - \ln Pi) / (tf - ti) * 100$ ).*

Peso inicial (g)	Peso final (g)	Período exper.	T°C	G	Condiciones	Autor
<i>S.solea</i>						
0,11-0,13	0,3	40 d.	?	2,6	Pienso base sin atrayentes	METAILLER <i>et al.</i> (1983)
0,11-0,13	0,6-0,8	40 d.	?	4,1-4,9	Pienso con diversas combinaciones de aminoácidos y betaína	"
0,5	1,2	77 d.	?	1,14	Pienso con mejillón fresco**	MACKIE <i>et al.</i> (1980)
0,5	1,5	77 d.	?	1,43	Pienso con sustancias químicas que reproducen un extracto de mejillón	"
post-destete*	30	270 d.	15-17	1,85	Condiciones semiextensivas, con adición de pienso	LIEWES (1984)
post-destete*	320	2 años	18-20	1,23	Condiciones semiextensivas, con adición de pienso	"
post-destete*	200	3 años	?	0,69	Condiciones extensivas	PERSON-LE-RUYET (1986)
0,28	0,44	45 d.		0,93	Pienso base sin atrayentes	CADENA-ROA (1983)
0,24	0,47	45 d.		1,51	Pienso con mejillón	"
0,21	0,48	45d.		1,82	Pienso con <i>Artemia</i>	"
0,23	0,86	45 d.		2,94	Pienso con poliquetos	"
0,24	1,5	45 d.		4,0	Pienso con una mezcla de sustancias químicas***	"
<i>S.senegalensis</i>						
0,37	3,4	100 d.	?	2,83	Pienso de arranque de dorada	ESTEBAN <i>et al.</i> (1995)
4,63	19,7	90 d.	?	1,60	Corresponde a las "colas" de la clasificación del lote anterior. Pienso de dorada	"
15	42,8	90 d.	?	1,16	Corresponde a las "cabezas" de la clasificación del lote anterior. Pienso de dorada	"
19,7	96,8	337 d.	19	0,47	Pienso de dorada	ESTEBAN <i>et al.</i> (1997)
42,8	152,7	337 d.	19	0,38	Pienso de dorada	"
post-destete*	40,3	1 año	T°C natural	1,45	Condiciones extensivas	DINIS <i>et al.</i> (1999)
post-destete*	456	1 año	T°C natural	2,12	En policultivo con dorada, con adición de pienso	"

Notas: \* cuando se refiere a alevines después del destete, para el cálculo de G se estima un peso de 0,2 g.

\*\* el autor reporta una reducción de la tasa de crecimiento después de 50-60 días debido a la presencia de agentes antinutricionales en el mejillón fresco.

\*\*\*el autor imputa este excelente resultado a la dosis de sustancias químicas utilizadas en este trabajo, la cual es cinco veces superior a la empleada en MACKIE *et al.* (1980)

Para construir la Tabla se ha calculado, a partir de la información aportada por los autores, la tasa de crecimiento específica o instantánea ( $G$ ) de acuerdo con la siguiente expresión  $((\ln P_f - \ln P_i) / (t_f - t_i)) * 100$ .

Existen, por último, algunas referencias que pueden ayudar a caracterizar mejor el crecimiento de lenguado. Para la estimación teórica del crecimiento se han previsto temperaturas constantes a lo largo de un período relativamente largo, pero en realidad, algunos resultados experimentales indican que parece existir una posible variación cíclica anual en la tasa de crecimiento de *S. solea*. FONDS (1975) destaca que, según sus resultados experimentales, incluso manteniendo la temperatura constante a lo largo del ciclo productivo, los lenguados evidencian una fluctuación estacional de la tasa de crecimiento. Según el autor esta variación podría ser debida a cambios en el ciclo día/noche que se traducirían en crecimientos más reducidos en invierno.

Otro aspecto destacable en el estudio del crecimiento del lenguado, es la elevada dispersión de tallas registrada en las poblaciones de dicha especie, posiblemente como consecuencia de grandes diferencias en el potencial individual de crecimiento. LIEWES (1984) reporta una elevada heterogeneidad de tamaños durante el engorde, estableciendo importantes diferencias entre poblaciones dependiendo de si han sido o no clasificadas. Las diferencias en el tamaño individual llegan a ser de 15:1 cuando no se ha realizado ninguna clasificación, mientras que en lotes que se han clasificado previamente solamente se registran diferencias individuales del orden de 3:1.

Diversos autores han estudiado específicamente el problema de la dispersión de tamaños en *Solea solea* (BARAHONA-FERNANDES, 1990; QUIROS & HOWELL, 1993). Entre dichos autores parece existir un cierto consenso en que la competencia entre individuos juega un importante papel en este problema. QUIRÓS & HOWELL (1993) consiguen mantener bajo control la variación de tamaños dentro de un mismo lote, alimentando en exceso y de forma homogénea.

### *Supervivencia*

Los resultados de supervivencia reportados en la bibliografía varían mucho. Igual que sucede con el crecimiento, el volumen más importante de resultados de supervivencia hacen referencia a la fase de

---

destete o transición de presa viva a pienso. En general, se afirma que las mortalidades más importantes se producen en esta fase crítica, a pesar de que existe una cierta variabilidad entre autores en cuanto a las cifras.

Los factores que más parecen afectar dicha variabilidad son la edad a la que se empieza el destete y el tipo de alimento que se utiliza como dieta inerte. Pero de acuerdo con los resultados obtenidos en trabajos en los cuales se evalúan diferentes dietas, las supervivencias obtenidas en el destete parecen depender más del segundo factor, es decir el tipo de dieta que del primero, la edad de destete.

Trabajando con *Solea solea*, los autores que realizan un destete más precoz son GATESOUBE & LUQUET (1982) que consiguen resultados satisfactorios en destetes a pienso seco a partir del día 8 DDE (DDE= 'días después de la eclosión'), aunque los resultados mejoran hasta un 50% de supervivencia (supervivencia a 50 días de vida) cuando el tránsito se inicia hacia el día 11-12 DDE. Con la misma especie, FUCHS (1981/1982b) consigue supervivencias alrededor del 70% iniciando la transición a los 25 DDE (supervivencia a los 90 días de vida) y utilizando alimento fresco, aunque sea mezclado con una dieta seca base, mientras que cuando el alimento de transición es una dieta seca, la supervivencia no supera el 40% (90 días de vida). Aparte de los citados destetes precoces, el período que con más frecuencia se utiliza como inicio de la transición se halla entre los 30 y los 60 DDE (GIRIN *et al.* 1977 a los 30 DDE; METAILLER *et al.* 1983 a los 35 DDE; CADENA-ROA *et al.* 1982 a los 60 DDE) y en todos los casos la supervivencia depende más del tipo de dieta que de la edad de destete, oscilando entre el 9 y el 98% en un mismo trabajo.

En *Solea senegalensis*, el número de experiencias de destete publicado es más reducido. DINIS (1992) realiza un destete con dicha especie a los 30 DDE con buenos resultados, aunque el autor no establece el tiempo de duración de la experiencia. ESTEBAN *et al.* (1995) realizan el tránsito de presa viva a pienso seco el día 65 DDE y obtienen unos resultados de supervivencia excelentes próximos al 86%. BRUZON (1995) realiza un ensayo comparativo iniciando diversos destetes a dietas secas los días 30, 40 y 50 DDE, obteniendo los mejores resultados de supervivencia (hasta un 95%) en el destete iniciado a día 40 DDE.

Respecto a otros factores, como por ejemplo la influencia que la gradación del tránsito de uno a otro tipo de alimento tiene sobre la futura supervivencia del stock, existen resultados contradictorios en la bibliografía. BROMLEY & SYKES (1985) consideran que los resultados no difieren sensiblemente cuando se realizan transiciones muy bruscas o más suaves, mientras que DINIS *et al.* (1999) considera que cuanto más largo sea el período de destete mejores son los resultados de supervivencia y crecimiento.

En cuanto al tipo de dieta utilizada, se obtienen resultados excelentes cuando la dieta inerte consiste exclusivamente en materia fresca (98% de supervivencia en GIRIN *et al.* 1977). Pero considerando que ésta no es una alternativa realista para un cultivo industrial, los diversos autores ensayan diferentes grados de inclusión de material fresco y/o de sustancias atrayentes. CADENA-ROA *et al.* (1982) mejora sensiblemente la supervivencia utilizando la combinación adecuada de sustancias atrayentes (66% de supervivencia frente a un 9-17% obtenido con dietas que sólo incluyen materia fresca), lo cual indica, sin lugar a dudas, el camino a seguir.

Un elemento interesante es que la mortalidad que se registra durante el destete sigue una determinada dinámica que ya citan GIRIN *et al.* (1977) de tal modo que el incremento más importante de la mortalidad, no se produce en el mismo momento en que se retiran los nauplios de *Artemia* se sustituye por pienso, sino unos 20 días después. Este incremento de la mortalidad habitualmente asociado a una reducción del crecimiento, está relacionado según diversos autores, con una baja o insuficiente secreción enzimática que compromete la digestibilidad del alimento compuesto. DABROWSKI & GLOGOWSKI (1977) consideran que los enzimas presentes en las presas vivas serían necesarios para la digestión del alimento en larvas de peces y que por ello, al suministrar pienso se produce una deficiencia enzimática. Asimismo, APPELBAUM (1985) coincide en indicar que *Artemia* juega un papel doble en la alimentación larvaria: como alimento propiamente dicho y como suministro de enzimas digestivos. Esta hipótesis se suma a los resultados publicados por CLARK *et al.* (1985a) según los cuales *S.solea* no empieza a sintetizar determinadas enzimas proteolíticas, pepsina concretamente, hasta 80 días después de la eclosión. En un trabajo posterior de los mismos autores (CLARK *et al.*, 1986), en el que se realiza el seguimiento de la secreción enzimática de los individuos desde los 24 días de edad hasta el estado adulto, desde los primeros análisis (24 DDE) se

---

detecta un incremento progresivo de proteasas “neutras” (tripsina y quimotripsina con un pH óptimo de actividad alrededor de 7,8) y proteasas “alcalinas” (probablemente tipo elastasas, con un pH óptimo entre 9,5-10,5). En cambio la actividad enzimática debida a proteasas “ácidas” (tipo pepsina, pH óptimo alrededor de 1,7) no se empieza a hacer evidente hasta los 200 días de edad.

De acuerdo con todo ello, tal como sugerían LAUFF & HOFER (1984) y más recientemente MUNILLA MORAN *et al.* (1990), podría ser que esta especial dinámica enzimática combinada con la ausencia de enzimas exógenos, aportados habitualmente por las presas vivas, justificase los problemas que se producen después del tránsito a pienso reflejados básicamente en un pobre crecimiento y una elevada mortalidad. Esta es una de las hipótesis que actualmente se plantean aunque sigue sin demostrarse de forma absoluta.

Después de la delicada fase de destete se dispone de muy pocos resultados de supervivencia. Según HOWELL (1997) la impresión general durante la década de los 80, después de los reiterados brotes de BPN reportados en la bibliografía, sugería que el lenguado era una especie muy vulnerable a la enfermedad si no se mantenía en substrato de arena, lo cual complicaba el mantenimiento en cultivo. Posteriormente se publicaron datos que cambiaron dicha percepción de tal modo que hoy se considera que no existen evidencias que hagan pensar en una vulnerabilidad especial por parte del lenguado.

BAYNES & HOWELL (1993) consiguen buenos resultados de supervivencia en *S. solea*, sin substrato de arena y sin que se produzcan brotes de BPN, lo cual se debe según los autores a la optimización de la dieta y al mantenimiento de buenas condiciones higiénicas.

Igualmente, ESTEBAN *et al.* (1995), con *S. senegalensis*, aportan excelentes resultados de supervivencia, alrededor del 96%, en períodos de engorde de unos 100 días (individuos que pasan de 15 a 40 g en el período experimental). Los mismos autores, ESTEBAN *et al.* (1997) reportan supervivencias alrededor de 96% (lenguados de 20 a 100) y de 92% (individuos de 40 a 150 g) durante un período experimental de unos 340 días. Estos resultados se obtienen siempre en condiciones de intensivo, sin arena en el fondo, y con una alimentación basada en pienso seco.

En cambio DINIS *et al.* (1999), trabajando con *Solea senegalensis* en condiciones de extensivo en esteros, reportan una supervivencia bastante menor, aproximadamente del 20% en un año, en juveniles ya destetados que alcanzan un peso de 40 g. En otro lote que también durante un año se mantiene en policultivo con dorada en estanques pero con aporte de pienso, la supervivencia se reduce a un 8%; este resultado de supervivencia coincide con un excelente crecimiento durante el período citado ( de 35,3 a 456,1 g en un año) lo cual sugeriría que solamente habrían sobrevivido los individuos más aptos.

### **3.2. Objetivo del estudio**

En el capítulo anterior se evaluaba la posible influencia que puede tener sobre el comportamiento de lenguados un pienso organolépticamente modificado mediante incorporación de diversas sustancias. Tal como se especifica en el apartado 2.3.1.V (Condiciones de realización de la experiencia) en ese caso se aplicaba un test de aceptabilidad de un solo alimento a corto plazo.

En el presente capítulo, el objetivo es *evaluar la aceptación de piensos experimentales organolépticamente modificados por adición de aroma comercial y/o betaina en tests a largo plazo.* La aceptación de los piensos debería traducirse en un mejor rendimiento productivo de la población de peces en estudio. Este rendimiento productivo se medirá utilizando los parámetros de mayor importancia para el piscicultor, a saber, *crecimiento* y *supervivencia*. Dada la especie en estudio, la cual anteriormente ha evidenciado problemas por un incremento remarcable de la heterogeneidad de tamaños cuando se mantiene en condiciones de cultivo (BARAHONA-FERNÁNDEZ, 1990; QUIROS & HOWELL, 1993), también se cuantificará la posible influencia de los diversos piensos en la *dispersión de tallas*.

Para ello se llevan a cabo diversas experiencias que, mayoritariamente, constituyen tests de aceptabilidad a medio y largo plazo, en los que se compara la eficacia de diversos piensos durante períodos que se prolongan entre dos y siete meses, aproximadamente. También se describe el seguimiento de un lote durante 9 meses utilizando un único pienso experimental. Tal como lo describen SMITH y RASHOTTE (1978) los resultados obtenidos realizando ensayos de aceptación de piensos a

---

distintas escalas temporales no siempre coinciden. En los tests a corto plazo los aspectos organolépticos juegan un papel predominante. En cambio, en los tests a largo plazo, aunque las características organolépticas del alimento también juegan un papel determinante en tanto que determinan la ingesta, los aspectos nutricionales y energéticos pueden afectar más los resultados. En este sentido, es importante considerar la diferente reacción que un individuo puede tener ante diversos piensos que se le ofrecen separadamente pero con un margen de días o incluso horas, o bien ante un solo pienso presentado de forma continua durante meses.

A la vista del objetivo del presente estudio se hace evidente que se pretenden conseguir resultados que sean potencialmente transferibles al sector productivo. Con este criterio los piensos que se utilizan en la presente tesis se caracterizan por su parecido con los piensos comerciales. Esto es especialmente cierto para los ingredientes utilizados que siempre es escogen entre aquellos que habitualmente formarían parte de un pienso comercial.

### 3.3. Material y métodos

#### 3.3.1. Muestra e instalaciones

La especie utilizada en esta fase del estudio ha sido *S.senegalensis*. Es preciso recordar que *S.solea* y *S.senegalensis* son especies de lenguado indistinguibles al nivel comercial. A menudo comparten áreas de pesca, se comercializan conjuntamente y no existe una diferente valoración comercial, de tal modo que con frecuencia ni siquiera los minoristas que los comercializan los identifican como especies diferentes.

En lo que respecta a la producción en cautividad, los primeros alevines disponibles procedían de Inglaterra y pertenecían a la especie *Solea solea*, mientras que en la actualidad existe una cierta disponibilidad de individuos de *Solea senegalensis* procedentes del Sur de España y Portugal. Según DINIS (1992) el período de puesta y los requerimientos ambientales de esta especie resultan muy convenientes para las *hatcheries* situadas en el sur de Europa. También de acuerdo con datos aportados por DINIS *et al.* (1999) la producción en masa de alevines en las

instalaciones pertenecientes a la Junta de Andalucía empezó en 1993, aunque aún no existe una absoluta garantía de suministro.

Actualmente no se han establecido todavía diferencias claras entre ambas especies de lenguado en cuanto a su aptitud para el cultivo. De acuerdo con DRAKE *et al.* (1984) en las costas del Sur de España y Portugal, en condiciones de policultivo extensivo, la tasa de crecimiento de *S. senegalensis* se sitúa en segundo lugar detrás de la de dorada (*S. aurata*), lo cual sugiere un potencial de crecimiento interesante.

Así pues aún existiendo la posibilidad de utilizar para un futuro cultivo industrial cualquiera de ambas especies, dada la mayor proximidad del suministro de alevines y el mayor potencial de la especie en el Sur de Europa, se decide trabajar con stocks de *S. senegalensis* procedentes de *hatcheries* comerciales del Sur de España.

Para la realización de las experiencias se ha utilizado un total de 14.000 individuos de la especie *Solea senegalensis* procedentes de diversas *hatcheries* comerciales del Sur de España. Cuando los individuos llegan a las instalaciones experimentales sin haber realizado la transición de presa viva a pienso, el destete se realiza siempre en un período de 8 días utilizando nauplios de *Artemia* enriquecidos con Superselco.

Las experiencias se llevan a cabo en las instalaciones de que disponía el D.A.R.P. de la Generalitat de Catalunya en el momento de realización de las experiencias, en Les Cases d'Alcanar (Montsià), cedidas para tal fin en el marco de los convenios firmados con dicha institución. Las condiciones concretas en las cuales se desarrollan las diversas experiencias se hallan descritas específicamente en cada uno de los casos.

### **3.3.2. Piensos experimentales utilizados y sistema de distribución del alimento**

Los piensos experimentales se formulan en la ESAB utilizando una hoja de cálculo EXCEL. Los ingredientes se mezclan tanto en la propia Escuela Superior de Agricultura de Barcelona (ESAB) como en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Politécnica de Valencia (Dep. de Ciencia Animal), según el caso. La mezcla obtenida es granulada por extrusión en la planta piloto de fabricación de piensos de la Universidad Politécnica de Valencia. El pienso que se utiliza como control externo es

---

siempre la dieta comercial para rodaballo que se ha utilizado en experiencias anteriores.

En el Anexo se describe detalladamente el análisis proximativo de las materias primas y de los piensos experimentales así como las analíticas empleadas para determinar la composición. Asimismo se describen, en dicho Anexo, las pruebas realizadas para conocer las características físicas de los piensos, en lo que se refiere a estabilidad en el agua y flotabilidad.

Para la distribución del alimento se decide utilizar comederos automáticos de reloj. El comedero se sitúa siempre en el mismo lugar del tanque. Cuando existe substrato de arena en el fondo del tanque, el alimentador se sitúa en la zona contraria a donde se encuentra la arena para facilitar la detección de alimento no ingerido y la limpieza del tanque. En la cinta deslizante del comedero se dispone la cantidad de pienso necesaria de tal modo que las partículas van cayendo al agua gradualmente a lo largo de toda la noche.

Con la finalidad de que el pienso llegue al fondo en una zona más o menos delimitada y en un estado de hidratación adecuado se diseña un dispositivo experimental específico. Consiste en un embudo semisumergido en el cual se introduce un pequeño caudal de agua que circula de forma helicoidal. Las partículas de pienso caen desde el comedero hacia el interior del embudo y son arrastradas por el caudal de agua hasta la boca del mismo. De este modo se evita que las partículas queden adheridas a las paredes del embudo, se consigue que caigan en una zona localizada libre de arena y que reciban cierto grado de hidratación de forma previa a su consumo.

Tal como se describe anteriormente, el alimento se distribuye a lo largo de toda la noche. Cada mañana se recoge mediante sifonado el pienso no ingerido lo cual permite valorar si el alimento administrado es excesivo o bien si existe un rechazo evidente a alguna de las presentaciones. Este procedimiento permite, cuando parece que la cantidad de partículas de pienso aumenta, ajustar la tasa de alimentación en consecuencia para evitar la acumulación de pienso. De forma adicional, con la finalidad de garantizar la no existencia de rechazo a alguno de los piensos se realiza una observación del comportamiento de los peces durante los primeros minutos

de la distribución de alimento. Cuando se inicia la distribución de alimento, la reacción normal de los peces consiste en salir de la zona oscura en la que habitualmente se ubican o se entierran, cuando existe arena, en el momento en que el pienso empieza a caer al agua y acudir hacia la zona donde caen las partículas, lugar en el cual se inicia la ingesta.

Cabe destacar que tras los diversos meses de experimentación, en ningún caso se observó una negativa absoluta a ingerir alguno de los piensos ofertados, produciéndose la adaptación a cada nueva presentación de forma relativamente rápida. Esta rutina que se mantiene siempre durante el mantenimiento de los lenguados, adquiere una especial importancia en aquellos casos en que las partículas son muy pequeñas.

### **3.3.3. Recogida de datos**

Los datos relativos al crecimiento de los peces (peso y longitud total) se obtienen a partir de muestreos realizados individualmente sobre lenguados, previa anestesia cuando se considera necesario (MS-222, 100 ppm). La frecuencia de muestreo se establece en unos 15 días para las pruebas más cortas y en unos 30-40 días en las pruebas más largas, con variaciones según la disponibilidad, condiciones climatológicas, etc.

Dado que la frecuencia de muestreo es relativamente elevada en especial cuando los peces son muy pequeños, siempre que es posible se evita el uso de anestesia, considerando su potencial capacidad de desencadenar respuestas fisiológicas de estrés (MOLINERO & GONZALEZ, 1995). Concretamente, en invierno y por las mañanas el nivel de actividad de los lenguados es tan bajo que permite realizar un muestreo rápido sin necesidad de anestesia.

En los casos en que el seguimiento es más prolongado (superior a 2 meses) resulta interesante evaluar la “calidad” del crecimiento, es decir si los individuos están creciendo de una forma armónica o proporcionada. Para ello se calcula el *Factor de Condición* (FC) de Fulton, utilizando las variables peso y longitud, del siguiente modo:

$$FC = (P/Lt^3) * 100 \quad (1)$$

siendo P peso individual en gramos y Lt longitud total en centímetros

---

Este parámetro se denomina también *Índice* o *Factor de nutrición* ya que está considerado como un indicador del estado nutricional de los peces así como de su contenido energético. De hecho, cuando se produce un consumo energético elevado, el crecimiento de los tejidos y la acumulación de energía en el músculo y el hígado, pueden dar lugar a que un individuo tenga un peso superior al usual para una misma longitud (BUSACKER *et al.*, 1990). Esta situación se reflejaría en un *Factor de Condición* superior al habitual para la especie y la edad. Por el contrario cuando existe un aporte energético deficiente el *Factor de condición* se reduce.

Utilizando las variables biométricas registradas se puede calcular la tasa de crecimiento instantáneo o específico ( $G$ ) en un período determinado de tiempo (2). Diversos autores proponen la siguiente expresión para calcularla (entre otros, WEATHERLEY & GILL, 1987), siendo una de las más utilizadas en la práctica,

$$P_f = P_i e^{G(t_f-t_i)} \quad (2)$$

donde  $P_i$  y  $P_f$  son el peso al inicio y al final del período transcurrido entre  $t_i$  y  $t_f$  y  $G$  la tasa de crecimiento instantáneo o específico

Formulado de otro modo

$$G = ((\ln P_f - \ln P_i) / (t_f - t_i)) * 100 \quad (3)$$

La expresión que se obtiene es más práctica y es la que se utilizará en el presente trabajo. Mediante esta expresión (3) se asume que el crecimiento en peso se ajusta a una función de tipo exponencial. La utilización de esta tasa es particularmente útil para comparar crecimientos en períodos de tiempo relativamente cortos (WEATHERLEY & GILL, 1987).

El crecimiento en longitud, por otra parte, se ajusta más a una función lineal, calculándose el incremento relativo de longitud ( $\Delta L.L. Rel.$ ) entre  $L_{t_i}$  y  $L_{t_f}$  en el período de tiempo transcurrido entre  $t_i$  y  $t_f$  del siguiente modo

$$\Delta L.L. Rel. = ((L_{t_f} - L_{t_i}) / L_{t_i} (t_f - t_i)) * 100 \quad (4)$$

Se escoge esta forma de expresión del crecimiento porque tiene en cuenta el tamaño inicial de los peces, aportando una información más real.

Por el contrario, en muchos trabajos, se expresa el incremento de longitud en milímetros por día, dividiendo simplemente el incremento registrado por los días del período, y por tanto sin considerar la longitud del pez. La información que aporta este tipo de expresión, relacionada únicamente con el tiempo, es pobre si no se acompaña de otros datos relativos a la muestra en estudio, especialmente la longitud inicial.

La mortalidad se establece a partir de los peces muertos recogidos individualmente y se ajusta al final de la experiencia mediante un recuento total de los individuos de cada tanque.

El dispositivo experimental disponible, que permite recoger una información cualitativamente muy importante sobre la aceptación de los piensos, no permite la cuantificación del pienso no ingerido, ya que la distribución del alimento se realiza a lo largo de varias horas y cuando se recoge el tiempo transcurrido es excesivamente largo. En consecuencia, los datos de ingesta disponibles no permiten calcular de forma realista el Índice de Conversión del Alimento (ICA) y se descarta la inclusión de los valores de ICA aparente por no ser considerados representativos.

#### **3.3.4. Métodos estadísticos**

A partir de cada conjunto de datos se aplica un análisis exploratorio de los mismos realizando resúmenes numéricos para evaluar la normalidad de la población y se aplican tests de normalidad (*normal probability plot*) para las variables peso y longitud total en cada lote y en cada muestreo.

Para la comparación del crecimiento en los diferentes lotes se aplica un Análisis de la Varianza (ANOVA) aplicado a diferentes muestreos. La inferencia estadística aplicada sobre el muestreo inicial se utiliza como test de homogeneidad y la aplicada sobre el muestreo final para evaluar los resultados de crecimiento. Cuando la experiencia es relativamente larga y/o cuando se considera interesante para una posterior discusión, se aplica también la inferencia a uno de los muestreos intermedios.

Cuando los resultados así lo requieren se aplica un test de comparación múltiple de medias utilizando el método de *Tukey-Kramer*. Para la inferencia estadística el nivel de significación que se utiliza es siempre  $\alpha = 0,05$ .

---

En una de las experiencias realizadas, en las cuales se comparan los piensos dos a dos se aplica un test t de *Student* al mismo nivel de significación.

Para evaluar las diferencias en supervivencia se aplica un test  $\chi^2$  considerando que existen diferencias al nivel  $p \leq 0,05$ .

La utilización de histogramas de frecuencias en cada caso permite valorar la dispersión de tamaños de los peces en los diferentes muestreos.

### **3.4. Desarrollo y resultados de las experiencias**

En este apartado se describirán separadamente las diversas experiencias llevadas a cabo para evaluar la posible influencia de la incorporación de aroma en piensos para lenguado. Se aportan los resultados obtenidos en cada una de ellas, separándolos en resultados de crecimiento, de supervivencia y de dispersión de tallas. En todos los casos se sigue el mismo esquema de presentación de la información discutiendo brevemente los resultados de cada experiencia. La discusión global del conjunto de los resultados expuestos se realizará en el siguiente apartado (3.5).

#### **3.4.1. Experiencia 1: evaluación a medio plazo de la eficacia del aroma frente a la betaína y a un pienso comercial**

##### **3.4.1.1. Objetivo de la experiencia**

En la presente experiencia se pretende evaluar la influencia de piensos que incorporan aroma y betaína en un lote de lenguados justo después del destete.

En el capítulo anterior se concluye que, en un test a corto plazo, el aroma comercial en estudio se muestra eficaz como *atrayente* (orientación lejana), *frenador* e *incitante* (orientación próxima e iniciación a la ingesta) mientras que resulta menos eficaz como *estimulante* (continuación de la ingesta). A pesar de que no se puede confirmar estadísticamente con los resultados de la experiencia discutida en dicho capítulo, parece ser que la betaína tiene un mejor comportamiento como *estimulante*. Este efecto estimulante es más evidente en el lote de peces que se denominan

‘pequeños’, cuyo peso, al inicio del ensayo descrito anteriormente, es inferior a 8 g. En este mismo grupo de peces el pienso con aroma en el interior y el exterior (Aa) aporta también unos resultados interesantes. Por otra parte, en el grupo de peces denominados “grandes” el aroma aplicado en el interior de la mezcla sí parece tener un buen comportamiento como *estimulante*, aunque la betaína, en la toma de alimento de la tarde también se comporta bien en la última fase de la secuencia, es decir la continuación de la ingesta.

El pienso ideal debería ser a la vez *atrayente, frenador e incitante y estimulante*, cumpliendo así su papel en cada una de las fases. Por este motivo, se plantea la posibilidad de que una combinación de aroma en el exterior y betaína en el interior pueda resultar eficaz. Asimismo se consideran interesantes los resultados conseguidos por los piensos con aroma en el interior, por lo cual, en la presente experiencia se utiliza dicha información como punto de partida y se diseñan dos piensos: A (fórmula base más aroma comercial) y B (fórmula base más betaína) que se compararán con el control comercial externo (C).

Aprovechando las buenas características como *atrayente y frenador* del aroma de bivalvo y con la finalidad de asemejar la atracción y la textura de los diferentes piensos, en todos los casos se aplica un *coating* de aceite vegetal en el cual se ha incorporado aroma comercial. De este modo se potencian las diferencias debidas a composición interna (palatabilidad).

#### 3.4.1.2. Descripción de la experiencia

A continuación se describen esquemáticamente las condiciones de realización del ensayo.

##### Características del stock (llegada 17/10/94)

---

Procedencia	Huelva: <i>bactbery</i> comercial
Edad y peso	200 días de vida (pre-destete), 655 mg
Nº inicial de peces	1710

---

##### Condiciones de la experiencia

---

Duración	65 días
Tanques	6 tanques de poliéster (2 tanques por pienso)
Superficie	1,19 m <sup>2</sup> por tanque
Volumen	300 L (altura de agua 25,21 cm) por tanque

---

Caudal	360 L h <sup>-1</sup> por tanque
Tasa de renovación	0,8 por hora (una cada 50 min.) por tanque
Densidad inicial	0,16 kg m <sup>-2</sup> (240 peces m <sup>-2</sup> , 0,62 kg m <sup>-3</sup> ) por tanque
Alimentación	6% del peso vivo por día. Alimentación nocturna automática, con comederos de reloj.

#### Condiciones físico-químicas

	T°C		O.D. mg L <sup>-1</sup> (%sat)	
	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
17-31 Oct.	18	21,0	6,5 (85,4)	8,3 (115,2)
1-15 Nov.	18	21,3	6,1 (80,2)	8,5 (118,1)
15-30 Nov.	16	19,5	6,5 (88,2)	9,2 (122,0)
1-15 Dic.	16	18,0	6,2 (78,4)	8,4 (110,4)
15-20 Dic.	15	16,5	7,4 (91,6)	11,6 (148,1)
	Ph		salinidad	
	8,0	8,8	32 por mil	36 por mil

#### Características de los piensos experimentales

A	Incluye aroma de bivalvo (1,5%)
B	Incluye betaína (3%)
C	<i>Control externo.</i> Pienso comercial para rodaballo. Incluye una combinación de betaína y aminoácidos desconocida

En todos los piensos se aplica un recubrimiento de aceite vegetal (8%) que tiene básicamente dos funciones, (1) actuar como soporte del aroma de bivalvo aplicado exteriormente (0,5% sobre peso de pienso) y (2) aportar mayor estabilidad a las partículas de pienso de acuerdo con las pruebas físicas descritas en el Anexo.

Es imprescindible destacar un aspecto de las características del stock. Los individuos utilizados llegan a la instalación a una edad muy avanzada sin haber sido destetados en la *hatchery*. En la introducción del presente capítulo se aportan diversos datos referentes a la edad a la cual se realizan habitualmente los destetes. La edad desde eclosión más frecuente se halla entre los 30 y los 60 DDE y el peso individual después de esta fase se encuentra alrededor de 200 mg. El lote utilizado para este ensayo llega a las instalaciones experimentales a los 200 días de edad sin haber consumido

otra dieta que *Artemia* y su peso individual no ha alcanzado todavía 1 g (peso medio del lote a su llegada 0,65 g). Se puede asumir, por tanto, un nivel de nutrición larvaria deficiente que obviamente condicionará el crecimiento de los individuos.

A su llegada a las instalaciones se alimentan con nauplios de *Artemia* y, cuando se considera adecuado, se realiza la transición a pienso. Finalizado el destete, y antes de iniciar el ensayo propiamente dicho, se establece un período de adaptación de 11 días después de los cuales se considera que los peces responden con normalidad a los piensos y al dispositivo experimental. Durante este período previo los peces consumen el pienso que recibirán durante el resto del ensayo.

Esta primera experiencia se inicia sin substrato en el fondo de los tanques, pero durante dicho período de adaptación y con fines terapéuticos, se considera oportuna la incorporación de arena en una parte de cada tanque para permitir que los peces se entierren durante el día. En todas las experiencias siguientes se utiliza substrato de arena del mismo modo.

### **3.4.1.3. Resultados**

#### *Crecimiento*

Antes de iniciar la fase de adaptación se realiza un muestreo que arroja un peso medio individual de 655 mg y una longitud total promedio de 43,7 mm. En la Tabla III.2. se muestran los resultados obtenidos en los muestreos realizados a partir del primer día de la experiencia y a lo largo del período experimental hasta el día 54 (día final de la experiencia). El muestreo final siempre se realiza sobre el total de la población, mientras que el resto de muestreos son parciales. Dado que el test de homogeneidad no indica existencia de diferencias significativas entre los dos tanques que constituyen repeticiones para cada pienso, éstos se tratarán a partir de ahora de forma conjunta.

En la Tabla III.3., se aportan las tasas de crecimiento, a saber,  $G$  (tasa de crecimiento específico o instantáneo) (3), e incremento relativo de longitud ( $\Delta L.L. Rel$ ) (4), en ambos casos para el período intermedio (muestreo día 36) y para el conjunto del período experimental (muestreo día 65), tal como se detalla en el apartado 3.3.3. (Recogida de datos).

Tabla III.2. *Crecimiento registrado a lo largo de la experiencia. Se expresan la media y el error standard (M (ES)) de los valores de peso individual (P en g) y longitud total (Lt en mm), así como número de individuos utilizados para el muestreo (N).*

Días exp.		1	11	25	41	54
Pienso		M (ES)				
<b>A</b>	N	70	60	52	31	21
	P	0,59(0,019)	0,64(0,025)	1,00(0,073)	1,32(0,127)	1,64(0,167)
	Lt	42,6(0,46)	44,5(0,61)	49,4(1,04)	53,5(1,43)	56,4(1,62)
<b>B</b>	N	60	48	40	41	143
	P	0,64(0,027)	0,83(0,059)	1,26(0,087)	1,87(0,131)	2,18(0,069)
	Lt	43,0(0,52)	46,4(0,80)	51,2(1,08)	57,7(1,29)	61,0(0,63)
<b>C</b>	N	60	60	60	60	180
	P	0,72(0,033)	0,75(0,043)	1,28(0,083)	1,73(0,083)	1,94(0,052)
	Lt	45,4(0,57)	45,1(0,65)	51,0(1,00)	55,7(0,89)	58,7(0,52)

A la vista de los resultados expresados en la Tabla III.3. los peces alimentados con pienso con betaína (B) son los que arrojan las tasas de crecimiento más elevadas, con una diferencia relativamente importante. Las tasas de crecimiento conseguidas por los peces que han consumido pienso A o pienso C son muy similares, con una ligera ventaja para el pienso con aroma cuando se evalúa el conjunto de la experiencia ( $Gt_j$ ).

Tabla III.3. *Tasas de crecimiento registradas en el período experimental siendo  $G$  y  $\Delta Lt$ . Rel las tasas de crecimiento en peso y longitud total en el período intermedio ( $t_m$ , día 1 a día 25) y en el conjunto del período ( $t_j$ , día 1 a día 54).*

Pienso	A	B	C
$Gt_m$	2,12	2,71	2,30
$\Delta Lt$ . Rel $t_m$	0,64	0,76	0,49
$Gt_j$	1,89	2,27	1,84
$\Delta Lt$ . Rel. $t_j$	0,56	0,64	0,50

Al aplicar la inferencia estadística a estos datos (Tabla III.4.) no se obtienen resultados concluyentes debido a un elemento que se hace evidente al estudiar la Tabla III.4. En los resultados de dicha Tabla, se observa que en el muestreo correspondiente a día 1 existen diferencias significativas. Esto sugeriría que, por factores incontrolados en la distribución inicial de los peces, se obtienen grupos no homogéneos en los distintos tanques, de tal modo que los tanques que consumen el pienso C incluyen un lote de peces significativamente más grandes que los que consumen el pienso A. Los peces adjudicados a los tanques que reciben pienso B quedan en una posición intermedia sin que puedan diferenciarse estadísticamente de los otros dos lotes.

Tabla III.4. Valor P obtenido en el test ANOVA y en el test de comparación de medias aplicados al factor pienso a muestreo inicial, día 1, ( $t_i$ ), tiempo medio, día 25, ( $t_m$ ) y tiempo final, día 54, ( $t_f$ ), para las variables peso (P) en g y longitud total(Lt) en mm. Se expresa la media (M) para los piensos A (aroma), B (betaina) y C (comercial) y para cada uno de los tiempos. Se indican los distintos niveles de significación con diferentes símbolos, del siguiente modo:  $\alpha \leq 0,05$ ,\*;  $\alpha \leq 0,01$ , \*\*;  $\alpha \leq 0,001$ , \*\*\*; n.s. = no significativo. En la clasificación de Tukey letras diferentes indican diferencias significativas dentro de cada tiempo ( $t_i$ ,  $t_m$  y  $t_f$ ).

<b>P (g)</b>	<b><math>t_i</math></b>	<b><math>t_m</math></b>	<b><math>t_f</math></b>
Valor P	0,0018**	0,0278*	0,0013**
<i>Clasificación Tukey-Kramer</i>			
<b>Pienso</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>
A	0,592 b	1,004 a	1,640 b
B	0,642 ab	1,262 a	2,180 a
C	725 a	1280 a	1940 ab
<b>Lt (mm)</b>	<b><math>t_i</math></b>	<b><math>t_m</math></b>	<b><math>t_f</math></b>
Valor P	0,0003***	0,3976 n.s.	0,0023**
<i>Clasificación Tukey-Kramer</i>			
<b>Pienso</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>M</b>
A	42,6 b	49,3 a	56,4 b
B	43,0 b	51,2 a	61,1 a
C	45,4 a	51,0 a	58,7 ab

Los resultados obtenidos al final del período experimental deben observarse a la luz de dicha incidencia, dado que, como se ha constatado, no existe homogeneidad en la distribución inicial de los peces. Teniendo en cuenta este factor es interesante valorar si los piensos ofertados han sido capaces de modificar el desequilibrio establecido en la situación inicial.

Al inicio del ensayo, el grupo de peces que consume pienso A es indistinguible del que consume pienso B. Al final de la experiencia, se observa cómo los peces que consumen A siguen siendo los que registran pesos y longitudes inferiores. Pero, mientras que al inicio sus variables biométricas no permitían distinguirlo del grupo que consumía betaína (B), al final del ensayo sí que se diferencian estadísticamente y en cambio no se puede diferenciar del grupo de peces que consume pienso control (C). Esto significa que B y C intercambian sus posiciones a lo largo del ensayo. En la distribución inicial de los peces a C le corresponden individuos más grandes y en cambio, aunque no existen diferencias significativas entre ellos, al final del período son los peces que reciben pienso B los que registran pesos y longitudes superiores.

---

Para comprender mejor el comportamiento de los diversos piensos experimentales en lo que respecta al crecimiento, es preciso estudiar conjuntamente los resultados de la inferencia y los de la Tabla III.3. donde se aportan las tasas de crecimiento registradas considerando el peso y la longitud inicial de los individuos. Tal como se ha comentado anteriormente la tasa de crecimiento en el conjunto del período, tanto en peso como en longitud, es sensiblemente mejor para el pienso con betaína (B) que para los otros dos. En el caso del pienso con aroma (A), teniendo en cuenta que el tamaño inicial de los individuos es significativamente inferior que el de los peces que consumen pienso control (C), se puede afirmar que el comportamiento del pienso ha sido interesante y que quizás una experiencia más prolongada posiblemente permitiría ver resultados finales más concluyentes.

En realidad, B y C tienen unas características organolépticas similares, ya que ambas incluyen betaína, aunque en el caso del pienso C se ignora la cantidad exacta además de que incluye aminoácidos, también en una proporción desconocida.

De acuerdo con la hipótesis que se planteaba en el apartado 3.4.1.1. un pienso con betaína en el interior y aroma en el exterior podría jugar un buen papel en las tres fases de la secuencia alimentaria, al aportar a la vez suficiente atracción y palatabilidad. Observando las tasas de crecimiento, se puede decir que esta predicción se cumple para B pero no para C, a pesar de que la sustancia básica es la misma. Es interesante destacar el hecho de que el pienso A aporta unos buenos resultados a pesar de que carece de la sustancia que se considera estimulante en esta clase de peso, siendo equiparables e incluso superiores a los conseguidos por C.

### *Supervivencia*

Al contrario de lo que ocurre con el crecimiento, las diferencias entre la supervivencia de los distintos lotes son mucho más claras. La supervivencia en el período se expresa de dos modos: supervivencia total como porcentaje respecto al número inicial de individuos durante 65 días (11 días de fase de adaptación, 54 días de fase experimental) (Tabla III.5) y evolución diaria de la supervivencia durante el conjunto del período (Fig. 3.5.).

Tabla III.5. *Supervivencia en cada uno de los piensos. Se expresa el número de individuos al inicio de la fase de adaptación (N inicial) y al final de dicha fase que a su vez constituye el inicio de la fase experimental, así como el porcentaje de supervivencia en cada una de las dos fases.*

Pienso	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
N inicial	623	672	680
N al final de la fase de adaptación	495	382	449
supervivencia en la fase de adaptación	79,5%	56,8%	66,0%
N al final de la fase experimental	21	143	180
supervivencia en la fase experimental	4,2%	37,4%	40,1%
<i>Supervivencia en el conjunto de la experiencia</i>	<i>3,4%</i>	<i>21,2%</i>	<i>26,5%</i>

Claramente se detecta que la supervivencia registrada por los peces que consumían pienso A es muy inferior a la de los peces que recibían los piensos B y C, los cuales tienen un comportamiento muy parecido. Además es importante señalar que la mortalidad que se produce en los peces que reciben A, tiene lugar masivamente dentro del período experimental, ya que su supervivencia en la fase de adaptación es la más elevada. Las diferencias en el porcentaje de supervivencia son estadísticamente significativas, de acuerdo con lo que indica la inferencia estadística aplicada (test  $\chi^2$ ).

En referencia a la evolución de la mortalidad (Fig.3.5.), es preciso destacar que la gráfica incluye el período de adaptación que empieza el día 17 de octubre y finaliza el 31 del mismo mes. A la vista de la evolución queda patente que la mortalidad no se detiene después de unos días de adaptación sino que se prolonga hasta bien entrada la experiencia, indicando que las posibles causas de muerte persisten. Hacia mediados de noviembre, aproximadamente un mes después del inicio de la fase de adaptación, parecen estabilizarse las supervivencias de los diferentes lotes y es en ese punto cuando se hacen más patentes las diferencias entre piensos.

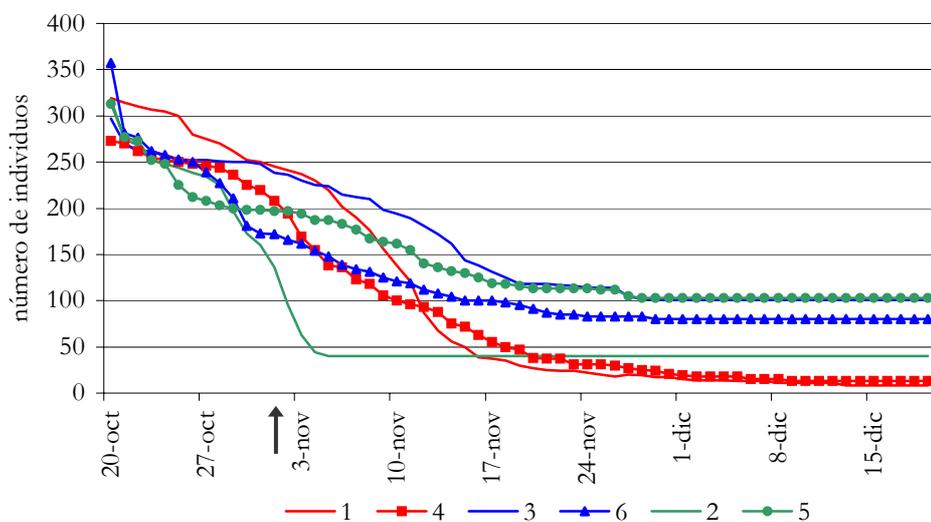


Fig.3.5. Supervivencia a lo largo del período experimental en cada uno de los tanques, expresada en número de individuos. La flecha indica el final de la fase de adaptación. Se expresan con el mismo color los dos tanques que consumen el mismo tipo de pienso. Los tanques 1 y 4 consumen pienso A, los 2 y 5 pienso B y los 3 y 6 pienso C.

Los peces que consumían pienso con aroma (A) son los que aportan peores resultados con supervivencias realmente reducidas, además ambos tanques siguen registrando un goteo de mortalidad prácticamente hasta el fin del ensayo. Entre los tanques que han recibido betaína (B) (2 y 5) existen diferencias importantes (25 y 52% de supervivencia) que probablemente deberían imputarse a factores ajenos a la alimentación. Resulta curioso que el tanque 2, con una supervivencia final peor consigue estabilizarse mucho antes que el resto, prácticamente al final de la fase de adaptación (3 de noviembre). Los tanques que han consumido pienso C arrojan los mejores porcentajes de supervivencia con una diferencia menor entre ellos.

#### *Dispersión de tallas*

Para evaluar gráficamente la dispersión de tallas se representan histogramas de frecuencias (Fig. 3.6.) para los valores de peso individual registrados a  $t_i$  (día 1) y a  $t_f$  (día 54). Se expresan los valores de peso y no los de longitud total, ya que la variable peso siempre ofrece un rango más amplio de datos que permite evaluar mejor la dispersión.

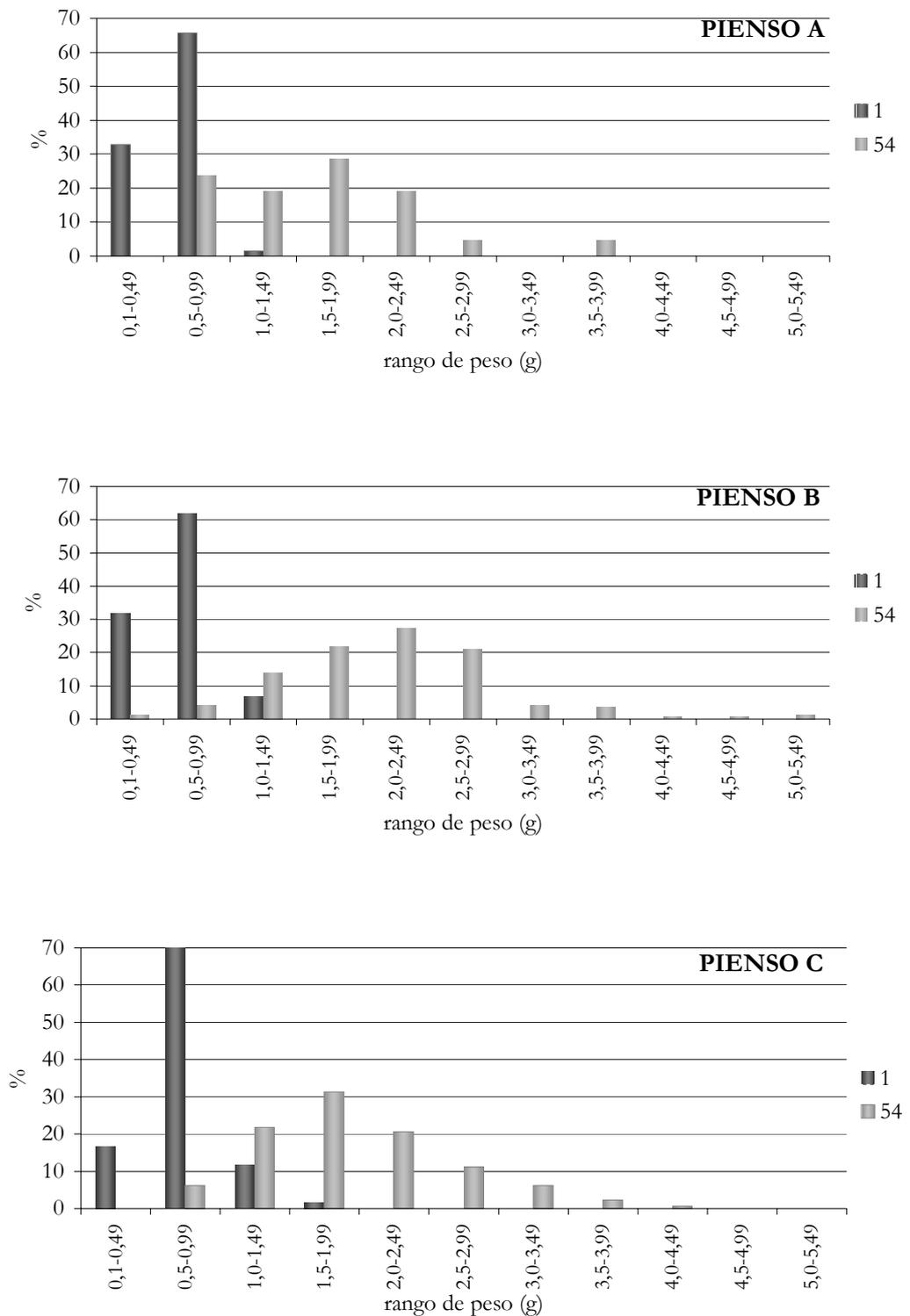


Fig.3.6. Distribución de los pesos individuales a día 1 y 54 de la experiencia para cada uno de los piensos.

---

Los resultados se muestran en función del pienso y para ello se agrupan los resultados obtenidos en los dos tanques que consumen el mismo tipo de pienso.

En los histogramas que representan los lotes de peces alimentados con B y C a tiempo inicial (día 1) se pone en evidencia la presencia de individuos más grandes, que superan un gramo de peso cuando la media de ambos lotes es de 0,64 y 0,72 g, respectivamente; incluso existen algunos individuos (pienso C) que alcanzan casi los 2 g.

Los histogramas correspondientes a día 54 de dichos piensos (B y C) mantienen una distribución en forma de campana como suele ser habitual en una población “normal” de peces que se encuentran en período de crecimiento. La campana del pienso B se alarga más hacia los rangos de peso superiores con individuos que alcanzan los 5,5 g de peso, prácticamente un valor igual al doble de la media del lote, lo cual indicaría un rendimiento realmente interesante de estos peces utilizando el pienso con betaína. Aunque pueda parecer que este pienso genera una dispersión de tallas más elevada, desde el punto de vista de producción, se puede interpretar cómo que el pienso con betaína, en esta fase del ciclo vital, potencia el crecimiento de aquellos individuos más aptos, los cuales tras una clasificación podrían tratarse de forma diferenciada y reportar un excelente rendimiento productivo.

En el gráfico correspondiente a los peces que han consumido el pienso A y en el muestreo final (día 54), se detecta un número relativamente elevado de individuos cuyo peso individual se mantiene por debajo de la media del lote (1,6 g). En dicho lote, después de 54 días de experiencia aún hay más de un 20% de peces que se encuentran en la clase de peso entre 0,5-0,9 g, que correspondería a la media del lote en el momento de iniciar el ensayo. De hecho, frente a la expresión gráfica de las clases de peso parece que un cierto porcentaje de peces prácticamente no ha crecido durante el período experimental. Se podría pensar que los individuos más inmaduros del lote simplemente no comen o bien que tienen un requerimiento importante por betaína y por tanto no son capaces de crecer con un pienso que no la aporte. Mientras que algunos individuos más maduros puedan crecer sin aporte de betaína. Esto permitiría explicar no sólo la diferencia en tasa de crecimiento, calculada a partir de la media del grupo, sino la presencia de individuos muy pequeños en el lote

alimentado con A así como la elevada mortalidad registrada en el mismo. Por el mismo motivo, si el requerimiento por betaína fuese absoluto, la mortalidad podría ser del 100% y el crecimiento igual a 0, mientras que algunos individuos sobreviven y crecen.

### **3.4.2. Experiencia 2: evaluación a medio plazo de la eficacia del *coating* externo de aroma**

#### **3.4.2.1. Objetivo de la experiencia**

Tal como se explica en el apartado 3.4.1.1., en la experiencia anterior los piensos utilizados se homogeneizan siempre aplicando un *coating* de aceite vegetal más aroma. El tratamiento se aplica con el objeto de asemejar las características de atracción y textura de los diferentes piensos. En ese caso se evalúa la combinación de este tratamiento externo con el poder estimulante de la sustancia incorporada en el interior de la mezcla, betaína o aroma. Los mejores resultados obtenidos en dicha experiencia, tanto en crecimiento como en supervivencia, son los obtenidos por el pienso experimental que incluye betaína (pienso B). El pienso C, en cambio, que también incluye betaína además de aminoácidos, da buenos resultados en lo que respecta a supervivencia pero no reporta el crecimiento esperado, situándose detrás del pienso con aroma.

Dados estos resultados se plantea la necesidad de evaluar la auténtica palatabilidad de cada pienso, planteándose la posibilidad de que la cubierta de aroma la esté modificando negativamente. Esta posibilidad existe considerando que, tal como indicaban SMITH & RASHOTTE (1978), los tests de aceptación pueden dar resultados diferentes al aplicarse a diferente escala temporal. Así pues, con el fin de determinar la posible influencia del aroma aplicado exteriormente, en la presente experiencia se establece una comparación entre dos presentaciones de cada pienso: con y sin aroma aplicado en el exterior.

El objetivo es analizar la aportación que el aroma externo pueda representar en las características organolépticas de cada uno de los piensos y estudiar si su palatabilidad es suficiente para garantizar la ingesta y por tanto el crecimiento, en ausencia de una sustancia, el aroma comercial, que, según los resultados obtenidos hasta ahora, mejora la atracción.

### 3.4.2.2. Descripción de la experiencia

#### Condiciones de la experiencia

Duración	58 días
Densidad inicial	0,12 kg m <sup>-2</sup> tanque <sup>-1</sup> (40 peces m <sup>-2</sup> , 0,41 kg m <sup>-3</sup> )
Alimentación	4% del peso vivo por día. Alimentación nocturna y automática (comederos de reloj)

#### Condiciones físico-químicas

	T°C		O.D. mg L <sup>-1</sup> (% sat.)	
	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
19 Ene- 9 Feb	12,5	14,0	6,4 (75,2)	11,5 (139,6)
10-28 Feb	13,0	15,0	5,5 (65,4)	10,0 (123,8)
1-18 Mar	12,5	13,0	9,4 (110,6)	11,0 (130,8)
	pH		salinidad	
	8,0	8,8	33 por mil	37 por mil

Para la presente experiencia se utiliza el stock resultante de la experiencia anterior. A partir del último muestreo del ensayo anterior, se mezclan todos los peces y se mantienen estabulados durante 25 días, siendo alimentados con la fórmula base experimental. Transcurrido este período se distribuyen los individuos al azar en 6 tanques. A partir de este momento los peces reciben el pienso experimental que les ha sido adjudicado para la realización de la experiencia y, dejando transcurrir 5 días para la recuperación del estrés por manejo y la adaptación al nuevo pienso, se da inicio a la nueva experiencia. Se utilizan los mismos tanques que en la experiencia anterior y se mantienen los parámetros de volumen de cultivo, caudal y tasa de renovación.

#### Características de los piensos experimentales

	Interior	Exterior
Aa	Aroma (1.5%)	Aceite + aroma (0,5%)
Ao	Aroma (1.5%)	Aceite
Ba	Betaína (3%)	Aceite + aroma (0,5%)
Bo	Betaína (3%)	Aceite
Ca	<i>Control externo.</i>	Aceite + aroma (0,5%)
Co	<i>Control externo</i>	Aceite

La nomenclatura de los piensos es la misma utilizada en el capítulo anterior, de tal modo que la primera letra, en mayúsculas, indica el tratamiento interno mientras que la segunda letra, en minúsculas, indica el externo (A/a = aroma, B = betaína y C = control comercial y o = ninguno).

### 3.4.2.3. Resultados

#### *Crecimiento*

La Tabla III.6. aporta los resultados obtenidos en los muestreos realizados a lo largo de la experiencia. Sólo el último es un muestreo total siendo el resto muestreos parciales.

Tabla III.6. *Crecimiento registrado a lo largo de la experiencia. Se expresan la media de pesos individuales (P en g) y de longitud total (Lt en cm), siendo N número de individuos muestreados, M media y ES error estándar.*

Días exp.		1	22	40	58
Pienso		M (ES)	M (ES)	M (ES)	M (ES)
<b>Aa</b>	N	39	30	30	35
	P	3,06(0,27)	3,33(0,38)	3,75(0,39)	3,68(0,36)
	Lt	6,6(0,16)	6,9(0,23)	7,2(0,25)	7,3(0,21)
<b>Ao</b>	N	39	29	30	39
	P	2,68(0,25)	3,08(0,37)	3,20(0,31)	4,11(0,39)
	Lt	6,5(0,20)	6,8(0,23)	7,0(0,23)	7,6(0,24)
<b>Ba</b>	N	39	15	16	36
	P	3,02(0,33)	2,59(0,19)	2,47(0,20)	3,04(0,20)
	Lt	6,6(0,21)	6,6(0,15)	6,4(0,19)	7,0(0,17)
<b>Bo</b>	N	39	30	30	36
	P	2,96(0,28)	3,22(0,29)	3,40(0,30)	3,56(0,27)
	Lt	6,6(0,19)	6,8(0,21)	7,0(0,22)	7,2(0,19)
<b>Ca</b>	N	39	30	30	34
	P	2,86(0,29)	3,67(0,41)	3,77(0,42)	4,21(0,44)
	Lt	6,6(0,20)	6,8(0,34)	7,2(0,26)	7,4(0,27)
<b>Co</b>	N	39	15	18	36
	P	2,69(0,26)	3,06(0,35)	3,69(0,37)	4,06(0,36)
	Lt	6,3(0,18)	6,8(0,25)	7,2(0,25)	7,6(0,24)

La Tabla III.7. muestra las tasas de crecimiento en peso y longitud para el período experimental. Considerando que el objetivo planteado es comparar los resultados obtenidos por cada pienso en presencia de cobertura externa de aroma o sin ella, se observa que, con independencia de la composición del pienso, es decir sea A, B o C, la tasa de crecimiento siempre es mejor para el pienso sin *coating* de aroma. Esta diferencia es menos marcada en el pienso C y bastante más evidente en los piensos A y B.

Tabla III.7. Tasas de crecimiento, siendo  $G$  (tasa de crecimiento específico o instantáneo) y  $\Delta Lt$  Rel (incremento relativo de longitud).

Pienso	Aa	Ao	Ba	Bo	Ca	Co
$G$	0,32	0,61	0,00	0,32	0,67	0,71
$\Delta Lt$ Rel.	0,15	0,27	0,10	0,15	0,15	0,36

Aunque el análisis de las tasas de crecimiento parece evidenciar diferencias importantes entre cada pareja de piensos, la inferencia estadística que se aplica a estos resultados, que en este caso consiste en una comparación mediante test t de *Student* de los valores de peso y longitud total individual obtenidos con cada pareja de piensos, no ratifica esta afirmación.

Tabla III.8. Valor P obtenido en el test t de *Student* aplicado al factor aroma a muestreo inicial ( $t_i$ ) y final, (día 58) ( $t_f$ ), para las variables peso (P) y longitud total (Lt). Se expresa la media (M) para cada tiempo y para los piensos A (aroma) B (betaína) y C (comercial) con cubierta externa de aroma 'a' o sin ella 'o'. Niveles de significación:  $\alpha \leq 0,05$ , \*;  $\alpha \leq 0,01$ , \*\*;  $\alpha \leq 0,001$ , \*\*\*; n.s. = no significativo.

<b>PIENSO A</b>			<b><math>t_i</math></b>			<b><math>t_f</math></b>		
P (g)	M	Valor P		M	Valor P		M	Valor P
Aa	3,1	0,7024 n.s.		Aa	3,7	0,4232 n.s.		
Ao	2,9			Ao	4,1			
Lt (cm)	M	Valor P		M	Valor P		M	Valor P
Aa	6,7	0,6101 n.s.		Aa	7,3	0,3951 n.s.		
Ao	6,6			Ao	7,6			
<b>PIENSO B</b>			<b><math>t_i</math></b>			<b><math>t_f</math></b>		
P (g)	M	Valor P		M	Valor P		M	Valor P
Ba	3,0	0,8976 n.s.		Ba	3,0	0,1114 n.s.		
Bo	3,0			Bo	3,6			
Lt (cm)	M	Valor P		M	Valor P		M	Valor P
Ba	6,6	0,9801 n.s.		Ba	7,0	0,4303 n.s.		
Bo	6,6			Bo	7,2			
<b>PIENSO C</b>			<b><math>t_i</math></b>			<b><math>t_f</math></b>		
P (g)	M	Valor P		$Mt_f$	Valor P		$Mt_f$	Valor P
Ca	2,9	0,6758 n.s.		Ca	4,2	0,8233 n.s.		
Co	2,7			Co	4,1			
Lt (cm)	M	Valor P		$Mt_f$	Valor P		$Mt_f$	Valor P
Ca	6,6	0,4294 n.s.		Ca	7,6	0,7126 n.s.		
Co	6,4			Co	7,4			

A pesar de que la impresión es que la cubierta externa de aroma empeora las características organolépticas de todos los piensos, especialmente A y B, tal como se observa en la Tabla III.8. en ningún caso existen diferencias significativas entre cada pareja de piensos. Así pues,

basándose en la inferencia aplicada, se puede considerar que las tendencias observadas de forma descriptiva no son suficientes como para afirmar que ambas presentaciones actúan de diferente modo sobre el crecimiento de los peces.

Teniendo siempre presentes los resultados estadísticos, se pueden comentar algunos aspectos referentes al comportamiento de cada pienso durante la experiencia.

En primer lugar y de forma general se observa una reducción muy importante de las tasas de crecimiento registradas por los peces en este período en comparación con la experiencia anterior. El factor que parece determinante en esta reducción global del ritmo de crecimiento es la temperatura a la cual se ha llevado a cabo esta experiencia (12-15°C), la cual se encuentra por debajo del óptimo para la especie y por debajo de la del ensayo anterior (15-21°C). Esta reducción de la tasa de crecimiento ligada al período invernal puede estar relacionada, además de a las bajas temperaturas, a la disminución del crecimiento reportada por FONDS (1975) incluso en lenguados mantenidos a temperatura constante.

A partir de este factor que afectaría a todos los peces por igual, resulta interesante comparar el rendimiento obtenido por cada uno de los piensos (considerando la media de los dos lotes alimentados con el mismo pienso), en iguales condiciones experimentales y en comparación con la experiencia previa. Los peces alimentados con piensos A y C reducen su tasa de crecimiento aproximadamente a la mitad respecto a la de la experiencia anterior. El lote de peces que consume pienso B, en cambio, reduce su crecimiento de una forma extraordinariamente más drástica, de tal modo que incluso uno de los lotes (Ba) registra un crecimiento medio igual a cero durante el período. No obstante, cuando se evalúe más adelante la mortalidad de este lote, se verá que la baja tasa de crecimiento registrada por el lote es probablemente el resultado de la muerte de los individuos más grandes.

De hecho, la experiencia se desarrolla a temperaturas próximas al límite a partir del cual se detiene la ingesta voluntaria de alimento. FONDS & SAKSENA (1977) establecen dicho límite en 10°C y casi la mitad de la experiencia se desarrolla a temperaturas alrededor de 12-13°C. Existe la posibilidad de que ante una voluntad de ingesta tan reducida

---

se produzcan cambios en las preferencias por uno u otro pienso, pero no existe suficiente información en la bibliografía que permita afirmarlo.

La diferente edad también puede explicar cambios en las preferencias organolépticas de los individuos. Parece que la edad de los peces entre uno y otro ensayo no sea tan diferente como para justificar cambios en las preferencias, pero ya en el capítulo anterior se observaron cambios significativos entre individuos coetáneos que se distinguían en su peso medio (inferior o superior a 8 g al inicio de la experiencia) En aquel capítulo, en los resultados obtenidos en tests a corto plazo, se observaba un buen comportamiento del pienso con betaína como *estimulante* de la ingesta en los peces pequeños. El conjunto de la población de peces utilizada sigue siendo inferior a dicha talla y por tanto, de acuerdo con aquellos resultados y con los de la experiencia 1, sería de esperar que la betaína, combinada o no con aroma, diese los mejores resultados.

En el presente ensayo, la combinación de sustancias atrayentes y estimulantes incluidas en C parece funcionar bien, con escasas diferencias por el hecho de incorporar aroma en el exterior. Igual que en el ensayo anterior posiblemente la presencia de betaína es la causa del buen rendimiento obtenido, pero en este caso es la fórmula comercial C la que se comporta mejor que la fórmula experimental que también contiene betaína (B).

Por otra parte, los resultados obtenidos por el pienso A sin aroma en el exterior (Ao), son comparables a los obtenidos por C en cualquiera de sus presentaciones, evidenciado un buen comportamiento como potenciador de la ingesta y por tanto del crecimiento. De acuerdo con estos resultados se podría considerar que a partir de unos 3 g de peso la presencia de betaína no es un requisito imprescindible para los peces. Considerando el coste de sustancias como la betaína y los aminoácidos, Ao se pueda considerar la fórmula con un mejor rendimiento productivo al compararla con las que aquí se evalúan.

### *Supervivencia*

La supervivencia total al final de la experiencia se expresa en la Tabla III.9. mostrando un comportamiento muy similar para los diferentes lotes. La mortalidad, muy reducida en comparación con el ensayo anterior, se produce durante los primeros 15-20 días de la experiencia,

estabilizándose posteriormente y manteniendo la supervivencia constante durante el resto del período.

De acuerdo con lo que se intuye al observar los resultados de la Tabla III.9. la estadística (test  $\chi^2$ ) no establece diferencias significativas en las supervivencias registradas en cada uno de los lotes de peces. Las mortalidades no se pueden considerar influenciadas por la modificación organoléptica de los piensos

Tabla III.9. *Supervivencia al final del período experimental en cada uno de los tanques. Se expresa para cada tanque el tipo de pienso utilizado, el número inicial de individuos (n) y el porcentaje de supervivencia a los 58 días de experiencia.*

Pienso	Aa	Ao	Ba	Bo	Ca	Co
N inicial	48	49	48	48	49	49
N final	35	39	36	36	34	36
supervivencia	72,9%	79,6%	75,0%	75,0%	69,4%	73,5%

#### *Dispersión de tallas*

En la Figura 3.7. se expresan los pesos individuales de cada lote en forma de histogramas de frecuencias. En cada gráfica se aparean las dos presentaciones de cada uno de los piensos A, B y C.

La representación gráfica de los pesos en cada lote no permite destacar ninguna tendencia que establezca diferencias claras entre piensos, en lo referente a dispersión de tallas.

En referencia al pienso con betaína y aroma (Ba) surge un comentario relevante. Se observa como un cierto porcentaje de la población, que en el muestreo inicial se situaba en las clases de peso superiores, en el muestreo final no aparece. Si se supone que han muerto durante el período experimental, y considerando que la tasa de crecimiento se calcula con el valor medio de pesos de lote, la desaparición de estos individuos más grandes justificaría el nulo crecimiento experimentado por la población de peces alimentada con pienso Ba. Aunque en menor medida, lo mismo sucede con el lote de peces que consumen C, lo cual permitiría pensar en una tasa de crecimiento individual probablemente más elevada que la que refleja la media de ambos lotes.

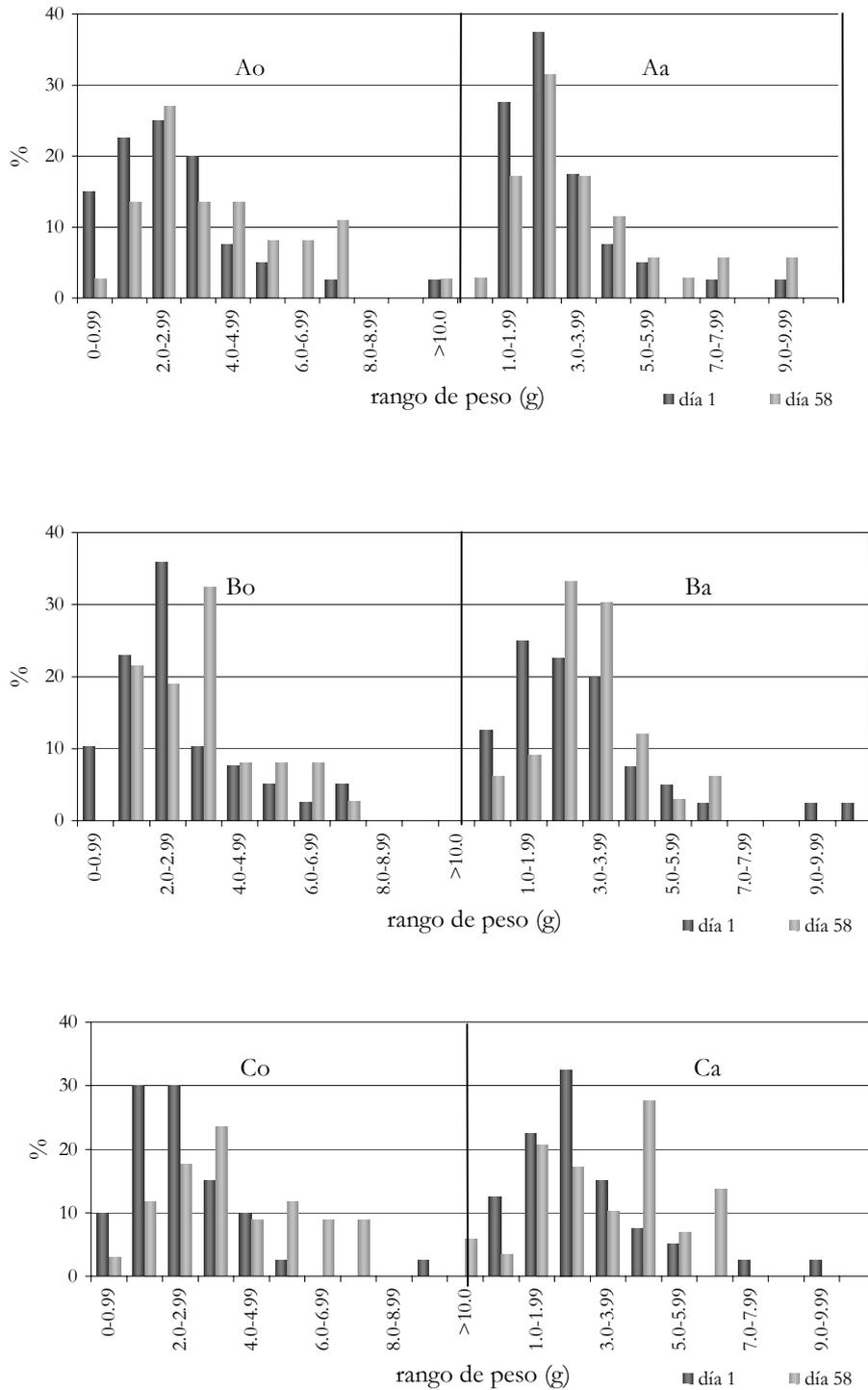


Fig.3.7. Distribución de los pesos individuales a día 1 y 58 de la experiencia para cada pareja de piensos.

### 3.4.3. Experiencia 3: seguimiento a largo plazo de un lote alimentado exclusivamente con pienso con aroma

#### 3.4.3.1. Objetivo de la experiencia

A partir de los resultados de crecimiento y supervivencia del pienso con aroma en la experiencia 2, se plantea la posibilidad de evaluar el rendimiento que tendría un lote de peces mantenido durante un período prolongado de tiempo utilizando exclusivamente la presentación que incluye aroma en el interior (fórmula Ao de la experiencia anterior).

Para ello se utiliza de nuevo el stock resultante de la experiencia 2 y se mantiene el seguimiento del lote durante unos 9 meses. La duración del presente seguimiento podría equivaler al período de pre-engorde y engorde en condiciones de producción.

#### 3.4.3.2. Descripción de la experiencia

##### Condiciones de la experiencia

Duración	18 de marzo hasta 5 de diciembre (263 días)
Densidad inicial	0,5 kg m <sup>-2</sup> (40 peces m <sup>-2</sup> , 0,6 kg m <sup>-3</sup> )
Alimentación	Se ajusta progresivamente, de acuerdo con las tablas de alimentación para dorada, según temperatura y peso individual. Alimentación nocturna y automática (comederos de reloj).

##### Condiciones físico-químicas

	T°C	O.D. mg L <sup>-1</sup> (%sat)	PH	Salinidad
Marzo	14,8	9,5 (117,5)	8,0	34,5 por mil
Abril	18,6	8,0 (107,0)	8,0	33 por mil
Mayo	19,4	9,0 (121,5)	8,1	33,8 por mil
Junio	22,3	6,9 (97,6)	8,3	34,2 por mil
Julio	27,6	6,3 (98,6)	8,1	35 por mil
Agosto	26,7	6,6 (101,6)	8,2	34,6 por mil
Septiembre	22,6	7,8 (112,2)	8,0	34 por mil
Octubre	20,8	6,7 (93,0)	8,0	33 por mil
Noviembre	18,7	7,5 (100,3)	8,0	32 por mil
Diciembre	16,5	7,3 (93,2)	8,1	33 por mil

Se utilizan los mismos tanques empleados en las experiencias anteriores pero ajustando el caudal y la tasa de renovación a la biomasa presente. La experiencia se inicia con un caudal que permite dos renovaciones por hora ( $600 \text{ L h}^{-1}$ ). Al final de la misma, con una densidad de  $3,0 \text{ kg m}^{-2}$  ( $12 \text{ kg m}^{-3}$ ), el caudal se ajusta a 6,6 renovaciones por hora ( $2000 \text{ L h}^{-1}$ ). Cuando se considera necesario, con fines profilácticos o terapéuticos, se incorpora substrato de arena en una parte del tanque tal como se ha explicado anteriormente.

En este seguimiento se realizan menos muestreos que en las experiencias anteriores ya que dada la duración del ensayo, la pauta de muestreo quincenal resultaría excesivamente estresante. Por otra parte, aquí se pone más énfasis en los resultados obtenidos a largo plazo que en su evolución en períodos cortos de tiempo.

El pienso utilizado es el denominado pienso A, que incluye un 1,5% de aroma comercial en el interior, aplicando exteriormente *coating* de aceite vegetal para mejorar la estabilidad, tal como se ha realizado en las anteriores experiencias. La composición de la fórmula se halla descrita en el Anexo.

### 3.4.3.3. Resultados

#### *Crecimiento*

En la Tabla III.10. se detallan los resultados de peso y longitud total obtenidos en los muestreos totales realizados a lo largo de la experiencia. Se expresa además el FC (Factor de condición) calculado en cada muestreo de acuerdo con la ecuación de Fulton expresada en el apartado 3.3.2. (Recogida de datos) que permite evaluar si el crecimiento en peso y longitud total se produce de forma armónica.

Tabla III.10. *Crecimiento registrado a lo largo de la experiencia. Se expresan la media de pesos individuales (P en g) y de longitud total (Lt en cm), así como el Factor de Condición (FC) calculado, siendo N número de individuos, M media y ES error estándar.*

Días exp.	1	122	217	263
	M (ES)	M (ES)	M (ES)	M (ES)
N	48	48	47	47
P	3,80(0,36)	37,43(2,20)	81,35(5,97)	100,26(9,73)
Lt	7,36(0,22)	14,64(0,29)	18,53(0,46)	19,48(0,62)
FC	0,95(0,01)	1,13(0,02)	1,17 (0,02)	1,22(0,02)

Respecto al FC se observa una tendencia creciente a lo largo del período experimental. La tendencia observada aquí coincide en el aspecto temporal (es decir, época en que se produce) con la reportada por GARCIA-FRANQUESA (1996) en lenguados (*S.senegalensis*) a partir de 2 años de edad y en el Delta de l'Ebre. En dicho trabajo se observa un incremento del FC, atribuible a la acumulación de reservas de cara a la gametogénesis, desde el verano hasta finales de invierno. La puesta, en esta especie y en dicha zona, se produciría en la primavera siguiente. Según GARCIA-FRANQUESA (1996), las hembras de lenguado, más precoces que los machos, iniciarían cambios biométricos atribuibles a su estrategia reproductiva a partir de este segundo año, realizando su primera maduración durante el cuarto año de vida.

Los valores de FC aportados por GARCIA-FRANQUESA (1996) para lenguados de un peso aproximado de 100 g, se hallan alrededor de 0,85-0,9, bastante inferiores al 1,36 registrado en el presente trabajo para un peso medio de 100,26 g.

Al final del presente seguimiento los lenguados utilizados tienen alrededor de 600 días de edad, se hallarían pues hacia la mitad de su segundo año de vida. De acuerdo con ello el incremento registrado en el *Factor de condición* podría ser en parte atribuible al inicio de los cambios relacionados con la reproducción. Pero, dada la magnitud de la diferencia, parece más probable que ésta sea básicamente debida a un aporte energético elevado y a un buen estado nutricional, siendo estas diferencias habituales al comparar peces procedentes del medio natural con peces de cultivo, siempre mejor alimentados.

En la Tabla III.11. se muestran las tasas de crecimiento en peso y longitud total calculadas para cada período entre muestreos y para el conjunto de la experiencia.

Tabla III.11. *Tasas de crecimiento, siendo G tasa de crecimiento específico o instantáneo y  $\Delta L$  Rel incremento relativo de longitud.*

Días exp.	1-122 (mar-jul)	122-217 (jul-oct)	217-263 (oct-dic)	1-263 (mar-dic)
G	1,87	0,82	0,45	1,24
$\Delta L$ Rel.	0,81	0,28	0,11	0,62

Lógicamente, en las tasas de crecimiento obtenidas se refleja de forma muy importante el efecto de la temperatura así como el peso

---

individual de los peces en cada período. Esta importante reducción del crecimiento en la época invernal ha sido reportada por diversos autores (MORINIÈRE, 1983; HOWELL, 1997), incluso en individuos mantenidos a temperatura constante (FONDS, 1975) por lo cual ha sido atribuida, no solamente al efecto de las bajas temperaturas sino a un ciclo estacional de la especie probablemente asociado al fotoperíodo.

### *Supervivencia*

La mortalidad durante el período experimental ha sido muy reducida, cifrándose la supervivencia en los 263 días del seguimiento en un 98%, a pesar de haberse registrado una patología infecciosa que requiere de tratamiento antibiótico durante el período invernal.

### *Dispersión de tallas*

Durante todo el ensayo no se realiza ninguna clasificación por tallas, por lo que al final del seguimiento la heterogeneidad de tamaños es considerable, reflejándose en el error standard de cada muestreo expresado en la Tabla III.10. Resulta interesante evaluar la heterogeneidad de los tamaños para conocer el diferente potencial de crecimiento de los peces de un mismo lote mantenidos en idénticas condiciones. Esta información permite estimar el tiempo que sería necesario para conseguir lenguados de tamaño comercial utilizando el pienso con aroma.

En las Figuras posteriores se muestran los histogramas de frecuencias obtenidos con los valores de peso individual en el muestreo inicial (Fig. 3.8.) y en los muestreos intermedios y final (Fig. 3.9.). El histograma de frecuencias de pesos del primer muestreo (Fig. 3.8.) se muestra separadamente del correspondiente al último muestreo debido a la gran diferencia en el rango de pesos. En el mes de marzo, un 1,7% de los individuos no alcanzaba 1 g de peso y sólo un 1% superaba los 10 g de peso individual.

En el histograma de frecuencias de la Figura 3.9. destaca la heterogeneidad de tallas que va aumentando en cada muestreo. A 5 de diciembre el rango abarca desde los 19,3 g hasta pesos superiores a 260 g.

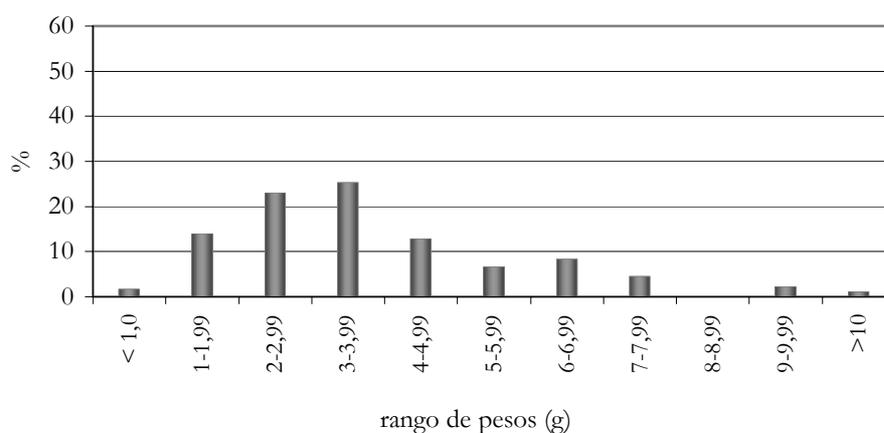


Fig.3.8. *Distribución de los pesos individuales en el muestreo inicial de la experiencia.*

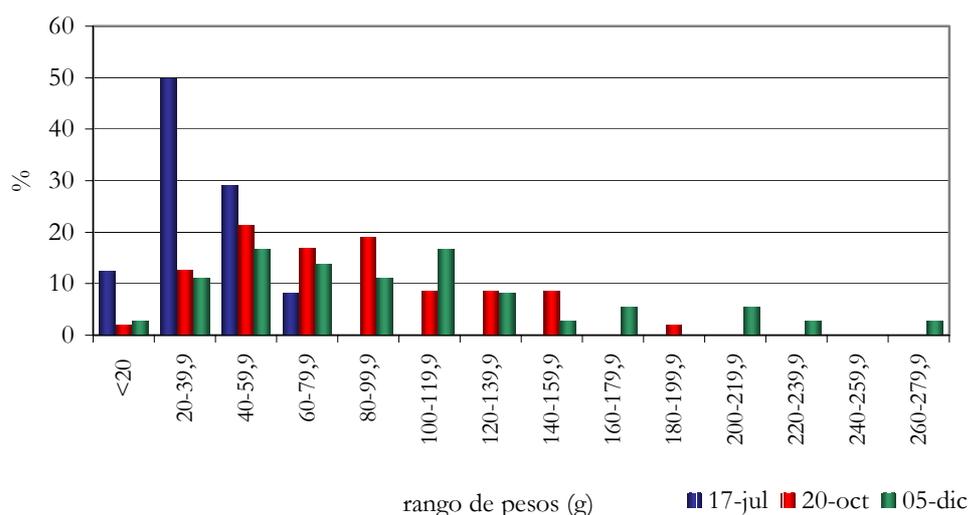


Fig.3.9. *Distribución de los pesos individuales en los muestreos realizados a día 17 de julio, 20 de octubre y 5 de diciembre.*

Resulta interesante observar que ya en el muestreo del 20 de octubre el 30% de los individuos supera los 100 g de peso, porcentaje que alcanza casi el 45% a 5 de diciembre. El lenguado se comercializa cuando presenta una longitud entre 20 y 30 cm y un peso total de 100 a 200 g, aunque pesos superiores puedan ser más apreciados. Así pues, de cara a una posible comercialización, un 30% de los individuos estarían a punto para salir al mercado un año después de su llegada a las instalaciones y un 45% después de 14 meses.

---

También es cierto que al final de los 263 días de experiencia aún existe un 2,8% de los individuos que no ha conseguido superar los 20 g de peso.

Estas diferencias parecen enfatizar la necesidad de una o más clasificaciones durante el período de crecimiento. Es muy probable que tanto aquellos peces que prácticamente no crecen como los que despliegan un crecimiento más activo pudiesen aportar resultados más interesantes formando parte de un lote más homogéneo que pudiese recibir un manejo más ajustado a su tamaño (tasa de alimentación, tamaño del pienso, etc.).

#### **3.4.4. Experiencia 4: evaluación de la incorporación en el pienso de enzimas exógenos**

##### **3.4.4.1. Objetivo de la experiencia**

El objetivo de la presente experiencia es optimizar el rendimiento (crecimiento, supervivencia) obtenido por un lote de lenguados (*S.senegalensis*) después del destete, es decir a partir del inicio de la alimentación inerte. En la experiencia 1, en la cual se estudia también esta primera fase de alimentación utilizando pienso, se obtienen unos resultados de crecimiento que, a pesar de ser variables según el pienso, serían aceptables para plantearse un cultivo industrial. En cambio la mortalidad registrada es claramente excesiva e intolerable para un productor.

En la introducción del presente capítulo, de acuerdo con diversos autores (APPELBAUM, 1985; DABROWSKI & GLOGOWSKI, 1977; CLARK *et al.* 1985b, 1986, LAUFF & HOFER, 1984; MUNILLA-MORAN *et al.*, 1990), se plantea la hipótesis de que exista una deficiencia de enzimas digestivos endógenos en las primeras etapas de la vida de las larvas. Siempre según los mismos autores, cuando la alimentación incluye solamente presas vivas dichas deficiencias en el equipamiento digestivo vendrían cubiertas precisamente por el aporte de enzimas de las propias presas. Al pasar a pienso, la incapacidad para digerir adecuadamente el alimento sería, en esta fase, el principal responsable de la elevada mortalidad. En el mismo sentido el crecimiento en las primeras fases del cultivo se vería también afectado y, si la hipótesis fuese cierta, su mejoría no podría conseguirse simplemente con cambios organolépticos en el pienso

sino que serían necesarias modificaciones más orientadas a la fisiología de los peces.

Precisamente con este objetivo KOLKOVSKI *et al.* (1993) se plantean suplementar un pienso con enzimas exógenos para alimentar larvas de dorada (*S. aurata*). En dicho trabajo el crecimiento de las larvas se ve positivamente afectado por la inclusión de enzimas pancreáticos de origen porcino, debido a una mejor asimilación de la dieta.

En la presente experiencia se pretende evaluar de forma preliminar la posibilidad de que la presencia de enzimas en piensos para lenguados sea capaz de optimizar su crecimiento y su supervivencia. De hecho la suplementación con enzimas exógenos es una práctica habitual en las primeras edades de porcino y en avicultura y aquí se plantea su aplicación en peces. Se habla de evaluación preliminar debido a que el objetivo de esta tesis es obtener resultados que puedan tener una aplicación en la producción industrial de lenguados. Los trabajos necesarios para ratificar con profundidad esta hipótesis tendrían un cariz más fisiológico y darían lugar a otro trabajo de tesis.

Así pues, en la presente experiencia se utiliza como fórmula base el pienso A, ya utilizado en las anteriores experiencias, que incorpora aroma comercial en un 1,5% y que actúa aquí como control. Los piensos que se utilizan para comparar con dicho control están constituidos por la misma fórmula base que incluye aroma, suplementada con dos tipos de enzimas digestivos, pepsina y tripsina. Como en los casos anteriores se establece la comparación a partir de los resultados de crecimiento, supervivencia y dispersión de tallas.

#### **3.4.4.2. Descripción de la experiencia**

En esta experiencia se utilizan dos lotes (desde ahora Lote 1 y Lote 2) de lenguados (*S. senegalensis*) que proceden de la misma *hatchery* comercial en Cádiz pero corresponden a dos puestas diferentes. A pesar de que solamente existen 6 días de diferencias entre las fechas de eclosión de ambos lotes, uno de ellos (Lote 2) ha sido clasificado en origen. Este diferente manejo hace que las características de ambos lotes sean diferentes a su llegada a las instalaciones experimentales.

La clasificación realizada en la *hatchery* sirve para descartar a los individuos con malformaciones. Según la información aportada por la *hatchery* comercial que suministró los alevines, inicialmente la población de lenguados de la cual se extrajo el Lote 1 tenía una mejor calidad que la población a la cual pertenecía el Lote 2, si ésta se evalúa considerando la proporción de individuos que evidencian albinismo o pseudoalbinismo así como otros tipos de anomalías. Sin embargo, a su llegada a las instalaciones experimentales, en el Lote 1 el porcentaje de individuos con anomalías de pigmentación era del 2,2%, mientras que en el Lote 2, debido a una clasificación más estricta, el porcentaje de individuos mal pigmentados era solamente de un 0,6%. De forma adicional, puesto que a menudo coincide que los individuos anómalos son los más pequeños, después de la clasificación el peso medio resultante era netamente superior al del Lote 1.

En la Tabla III.12. se indican las características de cada uno de los lotes a la recepción en las instalaciones experimentales.

Las condiciones del agua coinciden con las descritas en el apartado 3.4.3.2. para la Experiencia 3. Se describen, como en las experiencias anteriores, las condiciones de realización del ensayo.

Tabla III.12. *Características de los lotes en referencia a su fecha de eclosión, así como edad y peso a su llegada a las instalaciones experimentales y al inicio de la experiencia.*

	Lote 1	Lote 2
Fecha eclosión	15-febrero	21-febrero
Fecha llegada	6-abril	4-mayo
Edad a la llegada	50 días	72 días
Peso a la llegada	60 mg	320 mg
Inicio de las pruebas con enzimas	1-mayo	13-mayo
Edad al inicio de las pruebas	75 días	82 días
Peso al inicio de las pruebas	120 mg	440 mg

Los enzimas utilizados, tal y como se observa en el cuadro posterior, son de origen porcino (Sigma Chemical Co.). La disponibilidad comercial de enzimas procedentes de peces se limitaba, en el momento de realización de la experiencia, a una tripsina de bacalao a un precio prohibitivo. Las dosis de enzima se calculan teniendo en cuenta los niveles

de actividad enzimática en el tracto digestivo de lenguados (*S.solea*) adultos descritos en la bibliografía (CLARK *et al.*, 1986).

Condiciones de la experiencia	Lote 1	Lote 2
Duración	215 días	205 días
N. inicial de peces	7534	4755
Tanques	8 x 1m <sup>2</sup> (300 L)	6 x 1,19 m <sup>2</sup> (300 L)
Caudal	58-300 L h <sup>-1</sup>	58-300 L h <sup>-1</sup>
Tasa de renovación	5-1 por hora	5-1 por hora
Densidad inicial	0,11-0,13 kg m <sup>-2</sup>	0,29-0,34 kg m <sup>-2</sup>
Alimentación	A partir del 5% del peso vivo por día, ajustando según peso y temperatura. Alimentación nocturna automática, con comederos de reloj.	

#### Características de los piensos experimentales

A	<i>Control.</i> Constituye la fórmula base que incluye aroma de bivalvo (1,5%). La fórmula se halla detallada en el Anexo.
P	Fórmula base + pepsina de estómago porcino (actividad 91 unidades/mg de sólido)
T	Fórmula base + tripsina de páncreas porcino (actividad 1870 unidades/mg de sólido)
P+T	Fórmula base + pepsina + tripsina (en las mismas dosis arriba indicadas)

Durante un tiempo se realizan pruebas para mejorar la incorporación del enzima al pienso y posteriormente se deja transcurrir un período de adaptación de los peces a los nuevos piensos. Durante el período de adaptación cada tanque consume el pienso que le ha sido destinado para el resto de la experiencia. Al cabo de unos 30 días desde el inicio de las pruebas se establecen las dosis y la vía de incorporación definitivas. Las dosis definitivas son 0,175 g pepsina/g de pienso y 0,0085 g tripsina/g de pienso.

La incorporación de enzimas se realiza, en una primera fase, a través del *coating* de aceite: primero se disuelve el enzima en el aceite y posteriormente se aplica el aceite al pienso a una dosis del 8%, manteniendo el porcentaje habitual en el resto de las experiencias. En una segunda fase, el enzima se incorpora en el interior de la mezcla y posteriormente se granula en húmedo siguiendo el método descrito por CADENA-ROA (1983). El procedimiento se detalla en el Anexo.

---

### 3.4.4.3. Resultados

Antes de describir los resultados es necesario explicar, por una parte, el cronograma seguido en cada caso y, por otra parte, alguna incidencia que tiene implicaciones sobre los resultados obtenidos.

En referencia al Lote 1, tal como se ha comentado anteriormente, este lote llega a las instalaciones de cultivo sin haber sido clasificado en origen. Al principio de la experiencia, se observa que la heterogeneidad de tamaños es excesiva para poder aplicar un manejo adecuado. Por este motivo, se clasifica el lote separándolo en dos grupos, que se denominaran desde ahora *cabezas* y *colas*, utilizando como talla de corte una longitud total de 3,2 cm. Esta clasificación permite además ajustar el tamaño de las partículas de pienso. Así pues, en este caso al período de adaptación a los piensos se le suma, la clasificación y la recuperación de la misma.

En el Lote 2, simplemente después del destete se da inicio a la prueba de enzimas, dejando transcurrir un período de 30 días para la adaptación a los nuevos piensos.

El cronograma de la experiencia es del siguiente modo para ambos lotes:

#### Cronograma de la experiencia

	Lote 1	Lote 2
Llegada a las instalaciones	6 abril	4 de mayo
Destete	6-14 abril	4-12 mayo
Inicio alimentación con enzimas	1 mayo	13 mayo
Período adaptación	1 mayo- 26 junio (incluye clasificación)	13 mayo – 12 junio
Inicio seguimiento	26 junio (día 57)	12 junio (día 30)
Final seguimiento	1 diciembre (día 215)	4 diciembre(día 205)

Desde que se consideran iniciadas las pruebas, un mismo individuo recibe siempre el mismo tipo de pienso. Incluso en el Lote 1 en el momento en que se realiza la clasificación, ésta se lleva a cabo separadamente en cada tanque y los dos sublotes (*cabezas* y *colas*) resultantes en cada caso siguen recibiendo el mismo pienso. El interés por mantener

una misma dieta durante todas las pruebas se prioriza sobre el ajuste de las densidades y las biomásas en los tanques. La diferente mortalidad registrada en cada tanque provoca, pues, grandes diferencias en el número de individuos tal como se verá en las tablas correspondientes. La tasa de alimentación se ajusta estrictamente a la biomasa presente en cada tanque.

Existen dos excepciones a esta rutina de manejo. Tanto en el Lote 1 como en el 2, al hacer el recuento final teniendo en cuenta la mortalidad registrada, se han detectado desviaciones en el número de individuos en dos tanques, uno en cada lote (se indican con un asterisco en la Tabla III.13.). En el lote 1 la desviación se detecta al realizar la clasificación y se puede corregir antes de iniciar el seguimiento. En el Lote 2 esta diferencia introduce variaciones en el manejo del tanque a lo largo de todo el seguimiento, afectando básicamente a la tasa de alimentación. Las diferencias introducidas afectan considerablemente el crecimiento indicando una gran sensibilidad del lenguado frente a este aspecto, lo cual se discutirá en mayor profundidad más adelante.

En la Tabla III.13. se detalla la distribución real que se ha mantenido en los tanques a lo largo de la experiencia.

Tabla III.13. *Distribución en los tanques, calculada para el 1 y el 13 de mayo (Lote 1 y 2 respectivamente) considerando el recuento final de los supervivientes y la mortalidad registrada. Se expresa el número inicial de individuos (N), y la densidad inicial y final en kg m<sup>-2</sup>. \*incidencias en la distribución inicial de los peces.*

Lote 1				Lote 2			
n. tanque	N	kg m <sup>-2</sup> inicial	kg m <sup>-2</sup> final	n. tanque	N	kg m <sup>-2</sup> inicial	kg m <sup>-2</sup> final
4	1018	1,20	1,01	1*	378	0,33	2,33
5*	493	0,11	0,11	2	874	0,70	3,08
6	1056	1,08	0,71	3	891	0,71	-
7	948	1,24	1,89	12	799	0,72	3,21
8	1076	0,20	-	13	903	0,80	2,17
9	986	0,26	0,08	14	910	0,81	-
10	1074	1,02	1,47				
11	883	0,15	0,22				

## Lote 1

### Crecimiento

Los resultados de crecimiento correspondientes al período de seguimiento iniciado después de la clasificación, por tanto separados en *cabezas* (longitud total superior a 3,2 cm) y *colas* (longitud total inferior a 3,2 cm), se muestran en las Tablas III. 14. y III.15.

Tabla III.14. Crecimiento registrado por el grupo de *cabezas*. Se expresan la media de pesos individuales ( $\bar{p}$  en g) y de longitud total ( $L_t$  en cm), siendo  $N$  número de individuos,  $M$  media y  $ES$  error estándar. La nomenclatura de los piensos es la siguiente: P, fórmula base + pepsina, T, fórmula base + tripsina, P+T, fórmula base con pepsina + tripsina, A fórmula base.

Días exp.		57	92	126	172	215
Tanque/Pienso		M (ES)				
<b>7/P</b>	N	57	40	40	146	120
	P	1,08(0,04)	2,65(0,18)	4,74(0,44)	8,76(0,43)	15,77(0,88)
	$L_t$	4,38(0,06)	5,63(0,11)	6,86(0,20)	8,47(0,14)	10,11(0,19)
<b>4/T</b>	N	50	40	40	80	59
	P	1,18(0,07)	2,90(0,25)	4,87(0,42)	8,57(0,58)	17,14(1,21)
	$L_t$	4,50(0,09)	5,93(0,16)	6,91(0,20)	8,35(0,19)	10,37(0,25)
<b>10/P + T</b>	N	63	40	40	165	118
	P	0,95(0,04)	2,51(0,20)	3,56(0,27)	7,34(0,36)	12,42(0,66)
	$L_t$	4,17(0,06)	5,58(0,13)	6,26(0,17)	8,00(0,13)	9,30(0,17)
<b>6/A</b>	N	64	40	40	80	54
	P	1,02(0,05)	2,21(0,14)	3,73(0,35)	8,32(0,61)	13,15(1,12)
	$L_t$	4,36(0,08)	5,48(0,12)	6,42(0,20)	8,17(0,20)	9,44(0,25)

Tabla III.15. Crecimiento registrado por el grupo de *colas*. Se expresan la media de pesos individuales ( $\bar{P}$  en g) y de longitud total ( $L_t$  en cm), siendo  $N$  número de individuos,  $M$  media y  $ES$  error estándar. Siendo P, fórmula base + pepsina, T, fórmula base + tripsina, P+T, fórmula base con pepsina + tripsina, A fórmula base

Días exp.		57	92	126	172	215
Tanque/Pienso		M (ES)				
<b>8/P</b>	N	23	40	-	-	-
	P	0,19(0,02)	0,76(0,07)			
	$L_t$	2,45(0,07)	3,70(0,11)			
<b>11/T</b>	N	30	40	40	50	42
	P	0,17(0,01)	0,50(0,03)	1,61(0,11)	3,51(0,22)	5,20(0,28)
	$L_t$	2,44(0,03)	3,43(0,07)	5,04(0,12)	6,41(0,13)	7,27(0,14)
<b>5/P + T</b>	N	16	40	33	26	25
	P	0,22(0,03)	0,66(0,06)	1,21(0,09)	3,04(0,29)	4,53(0,45)
	$L_t$	2,61(0,13)	3,58(0,12)	4,59(0,14)	6,02(0,22)	6,85(0,29)
<b>9/A</b>	N	16	40	39	35	16
	P	0,26(0,03)	0,76(0,07)	2,24(0,18)	5,06(0,03)	4,84(0,52)
	$L_t$	2,80(0,09)	3,75(0,12)	5,54(0,14)	7,07(0,45)	7,23(0,27)

En la evaluación de las tasas de crecimiento (Tabla III.16.) para ambos lotes (*cabezas* y *colas*) queda patente la heterogeneidad en potencial de crecimiento que se da en una misma población de lenguados y, por ello, la importancia de una clasificación al inicio del período de crecimiento. Globalmente las tasas son más elevadas en el primer período experimental (día57-día126) que en el segundo. Esta época con una temperatura más elevada, parece permitir una mayor expresión al potencial de crecimiento generado por cada pienso ya que las diferencias entre piensos son más marcadas. En cambio en el segundo período que coincide con la bajada de la temperatura del agua, los crecimientos de los cuatro lotes son más bajos y más homogéneos.

Tabla III.16. *Tasas de crecimiento, siendo G tasa de crecimiento específico o instantáneo y  $\Delta L \Delta Rel$  incremento relativo de longitud. Se expresan los valores calculados en las dos fases de la experiencia y en el conjunto del período (en cursiva).*

		<b>57-126</b>	<b>126-215</b>	<b>57-215</b>
		(26jun-4sep)	(4sep-1dic)	(jun-dic)
<b>Cabezas</b>				
<b>7-P</b>	<i>G</i>	2,14	1,35	1,70
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	0,65	0,44	0,86
<b>4-T</b>	<i>G</i>	2,05	1,41	1,70
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	0,62	0,46	0,83
<b>10-P+T</b>	<i>G</i>	1,91	1,40	1,62
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	0,59	0,44	0,74
<b>6-A</b>	<i>G</i>	1,88	1,42	1,62
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	0,56	0,43	0,77
<b>Colas</b>				
<b>11-T</b>	<i>G</i>	3,26	1,32	2,16
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	1,05	0,53	1,25
<b>5-P+T</b>	<i>G</i>	2,47	1,48	1,91
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	0,46	0,45	1,02
<b>9-A</b>	<i>G</i>	3,12	0,87	1,87
	<i><math>\Delta L \Delta Rel.</math></i>	0,99	0,30	1,02

Los resultados del tratamiento estadístico de los valores de peso y longitud total se expresan en la Tabla III.17.

En dicha Tabla, se observa que en el muestreo inicial de la experiencia existen diferencias significativas entre lotes, indicando una falta de aleatoriedad en la distribución inicial de los peces, igual que sucedía en la experiencia 1. En estos casos es interesante observar hasta que punto los diferentes piensos son capaces de alterar el orden que existe en el primer muestreo.

En lo que respecta a las *cabezas*, en el muestreo inicial (día 57) las diferencias significativas se establecen entre los peces que reciben tripsina y los que reciben pepsina+tripsina, siendo los primeros más grandes y los segundos más pequeños que el resto. Los otros dos lotes, los que reciben pepsina y pienso control se sitúan en una posición intermedia.

Tabla III.17. *Valor P obtenido en el test ANOVA y en el test de comparación de medias aplicados al factor pienso a tiempo inicial, día 57, ( $t_i$ ), tiempo medio, día 126, ( $t_m$ ) y tiempo final, día 215, ( $t_f$ ), para la variable peso en g ( $p$ ) y para la longitud total en cm ( $L_t$ ). Se expresa la media ( $M$ ) para los piensos P, fórmula base + pepsina, T, fórmula base + tripsina, P+T, fórmula base con pepsina + tripsina, A fórmula base. Se indican los distintos niveles de significación con diferentes símbolos, del siguiente modo:  $\alpha \leq 0,05$ , \*,  $\alpha \leq 0,01$ , \*\*,  $\alpha \leq 0,001$ , \*\*\*; n.s. = no significativo. Dentro de cada tiempo ( $t_i$ ,  $t_m$  y  $t_f$ ), letras diferentes indican diferencias significativas.*

<b>Cabezas</b>						
$p$ (g)	$Mt_i$	$Valor P t_i$	$Mt_m$	$Valor P Mt_m$	$Mt_f$	$Valor P t_f$
P	1,08 ab	0,0180 *	4,74 a	0,0234 *	15,77 ab	0,0011 **
T	1,18 a		4,87 a		17,14 a	
P+T	0,95 b		3,56 a		12,42 b	
A	1,02 ab		3,73 a		13,15 b	
$L_t$ (cm)	$Mt_i$	$Valor P t_i$	$Mt_m$	$Valor P Mt_m$	$Mt_f$	$Valor P t_f$
P	4,38 ab	0,0166 *	6,86 a	0,0389 *	10,11 ab	0,0005 ***
T	4,50 a		6,91 a		10,37 a	
P+T	4,17 b		6,26 a		9,30 c	
A	4,36 ab		6,42 a		9,44 bc	
<b>Colas</b>						
$p$ (g)	$Mt_i$	$Valor P t_i$	$Mt_m$	$Valor P Mt_m$	$Mt_f$	$Valor P t_f$
P	0,19 b	0,0101 *	-	0,0001 ***	-	0,4108 n.s.
T	0,17 b		1,61 b		5,20 a	
P+T	0,22 ab		1,21 b		4,53 a	
A	0,26 a		2,24 a		4,85 a	
$L_t$ (cm)	$Mt_i$	$Valor P t_i$	$Mt_m$	$Valor P Mt_m$	$Mt_f$	$Valor P t_f$
T	2,44 b	0,0042 **	5,04 b	0,0001 ***	7,27 a	0,3161 n.s.
P+T	2,60 ab		4,60 b		6,85 a	
A	2,80 a		5,54 a		7,23 a	

En la evolución del grupo de *cabezas* en 215 días no se altera el orden establecido durante el muestreo, de tal modo que los peces que inicialmente eran más grandes lo siguen siendo al final del período experimental, e igual con los más pequeños. Como las tasas de crecimiento son ligeramente diferentes para los 4 lotes (Tabla III.16.), las diferencias se hacen un poco más marcadas pero siempre en el mismo sentido. Es decir, que los piensos P y T permiten crecer a los peces con un tasa ligeramente superior que los piensos P+T y A, siendo más claras las diferencias en la longitud total que en el peso. Estas diferencias se hacen evidentes en la Fig.

3.10. en la cual se muestra el valor promedio de las longitudes totales en el tiempo inicial, intermedio y final de la experiencia.

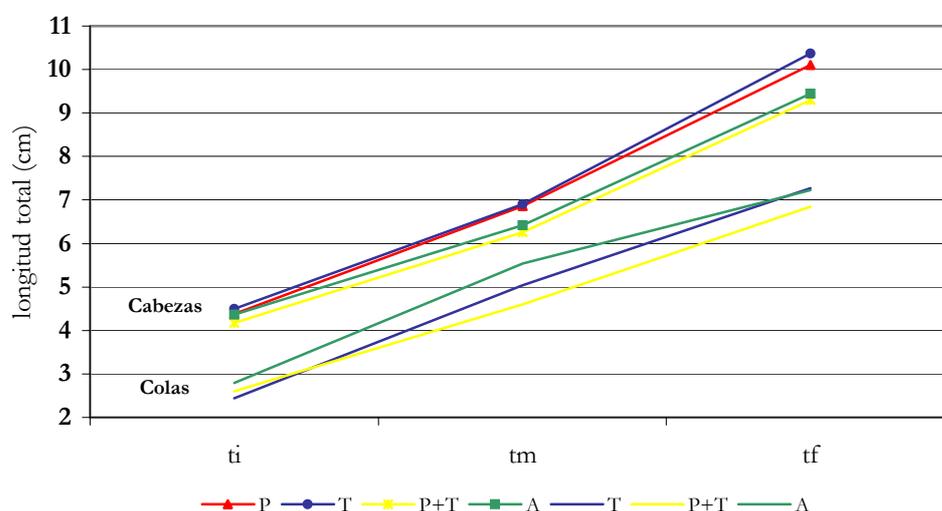


Fig. 3.10. Evolución del valor promedio de longitud total registrada en los peces que han consumido los diferentes piensos. Los resultados se muestran al inicio de la experiencia ( $t_i$ ), a la mitad de la misma ( $t_m$ ) y al final de la experiencia ( $t_f$ ).

En cualquier caso, estos resultados no permiten extraer conclusiones definitivas sobre el rendimiento comparativo de los piensos en lo que respecta a crecimiento. Se podría decir que el crecimiento registrado por los peces que consumen sólo uno de los enzimas (pepsina o tripsina) es mejor que el registrado por los peces que no reciben enzimas o que reciben una combinación de ambos, pero ninguno de ellos destaca de forma sensible ni por unos resultados excelentes ni por unos resultados muy deficientes, pudiéndose considerar relativamente similares.

Los resultados para el grupo de *colas* permiten diferenciar un poco más entre los diferentes piensos. Considerando que el lote de pepsina desaparece a medio ensayo ya no se discuten sus resultados.

En este caso, igual que sucede en el lote de *cabezas*, la distribución inicial de peces también sufre de una falta de aleatoriedad que da como resultado grupos no homogéneos con diferencias estadísticamente significativas. En este lote, los peces más grandes corresponden al pienso A y los más pequeños al pienso T, situándose entre los dos el pienso P+T.

---

En el muestreo intermedio (día 126) se advierte que el pienso con tripsina (T) mejora su rendimiento respecto al pienso con pepsina y tripsina y se sitúa en segunda posición. En este caso las diferencias estadísticas son muy claras entre el pienso base (A) y los piensos con enzimas. En la segunda parte del período experimental (día 215) el pienso T sigue mejorando su rendimiento, lo cual se hace evidente en la Fig. 3.10., y termina el ensayo con los mejores resultados aunque, en este caso, sin diferencias significativas.

Los valores de  $G$  y  $\Delta Lt Rel.$ , expresados en la Tabla III.16., para el pienso con tripsina son sensiblemente mejores que los registrados por el pienso control (A) y por el pienso que contiene la combinación de enzimas (P+T). La evaluación de dichos valores junto a la observación de las tendencias en la Fig. 3.10., permite pensar que posiblemente un período experimental más largo hubiese acentuado las diferencias.

Si se evalúan conjuntamente los resultados de los dos sublotes, se ve que el pienso con tripsina tiende a dar los mejores resultados. En el lote de *cabezas* este efecto queda enmascarado en cierto modo por el hecho de que los peces que lo consumen son más grandes que los de los otros lotes. Mientras que en el lote de *colas*, donde la situación es exactamente la contraria, los peces que consumen tripsina, a pesar de ser en principio los más pequeños, consiguen alcanzar un peso final superior al de los grupos que consumen pienso con pepsina más tripsina o el pienso control que solamente incluye aroma.

### *Supervivencia*

La supervivencia de la población en estudio sufre, en todos los grupos, un importante descenso durante el que se considera período de adaptación. En el Lote 1 la mortalidad sufre un importante incremento unos 15-20 días después de finalizado el destete (finales de abril, primeros de mayo) y se prolonga durante un período de tiempo similar dentro de la fase de adaptación, estabilizándose cuando ha transcurrido más de un mes desde el final de la transición a alimento inerte (mediados de mayo).

La mortalidad registrada en el período de adaptación previo representa prácticamente el total de la mortalidad producida durante la experiencia (Fig. 3.11. y Tabla III.18.). Dicha Figura no incluye aún la

separación en cabezas y colas porque la clasificación se lleva a cabo el 26 de junio.

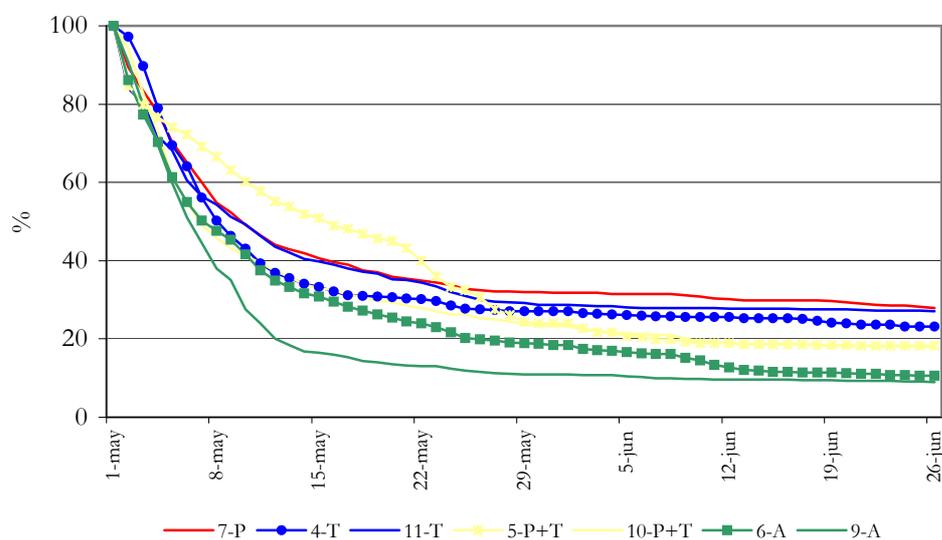


Fig.3.11. Evolución de la supervivencia durante el período de adaptación. Se expresa en cada caso el número de tanque y el pienso consumido, siendo P pienso con pepsina, T pienso con tripsina, P+T pienso con pepsina y tripsina y A fórmula base.

De acuerdo con la opinión expresada por diversos autores esta mortalidad podría ser atribuible a una deficiencia enzimática en este período de la vida del lenguado. En las condiciones aquí descritas, la supervivencia en los tanques que consumen pienso sin enzimas (A) se sitúa por debajo de la de los tanques con suplemento de enzimas exógenas, pero éstos no consiguen evitar una caída importante de la supervivencia durante este período crítico.

Los porcentajes de supervivencia al final de la fase de adaptación (día 57) y al final de la fase experimental (día 215) se hallan en la Tabla III.18. así como la supervivencia total registrada por cada tanque en el conjunto del período (día 1 a día 215). El tanque 8 desaparece de los registros como consecuencia de un accidente.

El tratamiento estadístico aplicado (test  $\chi^2$ ) para establecer diferencias en las supervivencias obtenidas por los diferentes lotes entre los días 57 y 215, arroja diferencias significativas tanto en el lote de *cabezas* como en el de *colas*. En efecto, en ambos casos la supervivencia en el período experimental es inferior en los lotes que consumen pienso control

(A) respecto a los que reciben un suplemento enzimático. Esta diferencia es mucho más evidente en el grupo de *colas* que en el de *cabezas*, en el cual el pienso con tripsina sólo consigue superar ligeramente la supervivencia del pienso control.

Tabla III.18. *Supervivencia en cada uno de los tanques a día 57 (inicio) y a día 215 de la experiencia. Se expresan por separado los valores de cabezas y colas, indicando para cada tanque el tipo de pienso utilizado, el número inicial de individuos (N) y el porcentaje de supervivencia al final de la fase de adaptación, de la fase experimental y en el conjunto del periodo.*

Tanque-Pienso	<b>Cabezas</b>	<b>7-P</b>	<b>4-T</b>	<b>10-P+T</b>	<b>6-A</b>
N inicial (día 1)		948	1018	1074	1056
N a día 57		264	235	193	112
Supervivencia a día 57		27,8%	23,1%	18,0%	10,6%
N a día 215		120	59	118	54
Supervivencia (d. 57-215)		45,4%	25,1%	61,1%	48,2%
Supervivencia (d. 1-215)		12,7%	5,8%	11,0%	5,1%
Tanque-Pienso	<b>Colas</b>	<b>8-P</b>	<b>11-T</b>	<b>5-P+T</b>	<b>9-A</b>
N inicial a día 1		1076	883	493	986
Supervivencia a día 57		21,8%	27,1%	18,3%	9,0%
N a día 57		235	239	90	89
N a día 215		-	42	25	16
Supervivencia (d. 57-215)		-	17,6%	27,8%	18,0%
Supervivencia (d.1-215)		-	4,8%	5,1%	1,6%

En la Figura 3.12. se expresan gráficamente los porcentajes de supervivencia registrados en la fase experimental y en el conjunto del período, es decir, sumando fase de adaptación y fase experimental. Si se considera la fase experimental no parece que la presencia de un solo enzima en el pienso aporte ventajas adicionales respecto al consumo de la fórmula base, en cambio, el consumo de pienso con ambos enzimas (P+T) parece incrementar la supervivencia tanto en cabezas como en colas.

Si se evalúan los resultados del conjunto de la experiencia, es decir los 215 días se podría concluir que, aunque la presencia de enzimas mejora ligeramente la supervivencia, la mortalidad registrada en todos los lotes es muy elevada.

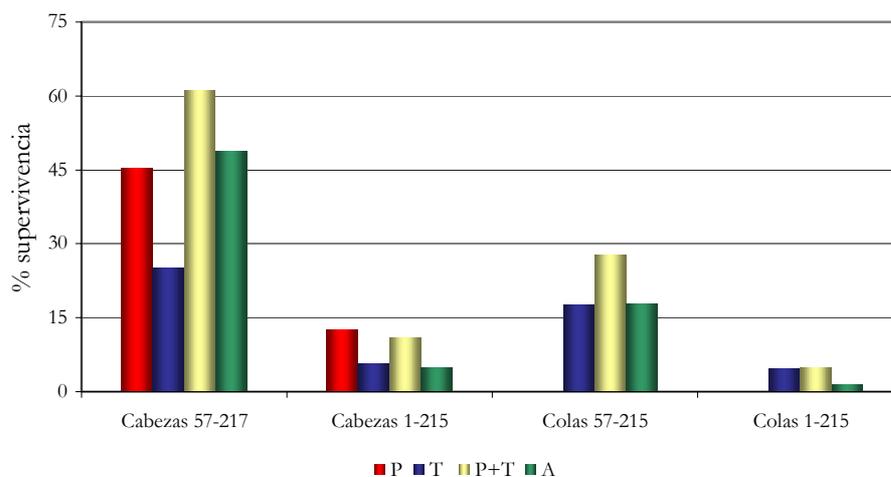


Fig.3.12. *Supervivencia (en %) para los lotes de cabezas y colas en la fase experimental (día 57-215) y en el conjunto del período (día 1-215). Siendo P pienso con pepsina, T pienso con tripsina, P+T pienso con pepsina y tripsina y A fórmula base.*

### *Dispersión de tallas*

En referencia a la dispersión de tallas, es preciso indicar que la heterogeneidad de este lote ha sido considerablemente reducida al clasificar los individuos. En las Figuras siguientes se muestran los histogramas de frecuencias de los pesos individuales para los diferentes tanques, tanto en el muestreo inicial (día 57), producto de la clasificación, como en el muestreo final (día 215), separados en *cabezas* (Fig. 3.13.) y *colas* (Fig. 3.14.).

En la Figura correspondiente a las *cabezas* (Fig.3.13.) y para el muestreo final, se observa una gran heterogeneidad de tamaños de tal modo que un pequeño porcentaje de los individuos alcanza incluso los 50 g de peso, cuando la media del lote se halla alrededor de los 15 g de peso individual. No parecen existir diferencias importantes imputables al consumo de uno u otro pienso. Exclusivamente en el caso de los peces alimentados con pepsina más tripsina (P+T) parece que existe un porcentaje de individuos pequeños ligeramente superior al de los otros lotes. Esto podría sugerir que la presencia del doble aporte enzimático ha favorecido la supervivencia de los peces más pequeños.

En el mismo período y en el lote de *colas* (Fig. 3.14.), procedente de la misma puesta, no existe ni un solo individuo que alcance

los 10 g de peso individual. En los tanques de *cabezas* más de la mitad de los peces superan este peso, más exactamente en el lote que ha consumido tripsina, un 72,9% supera los 10 g de peso.

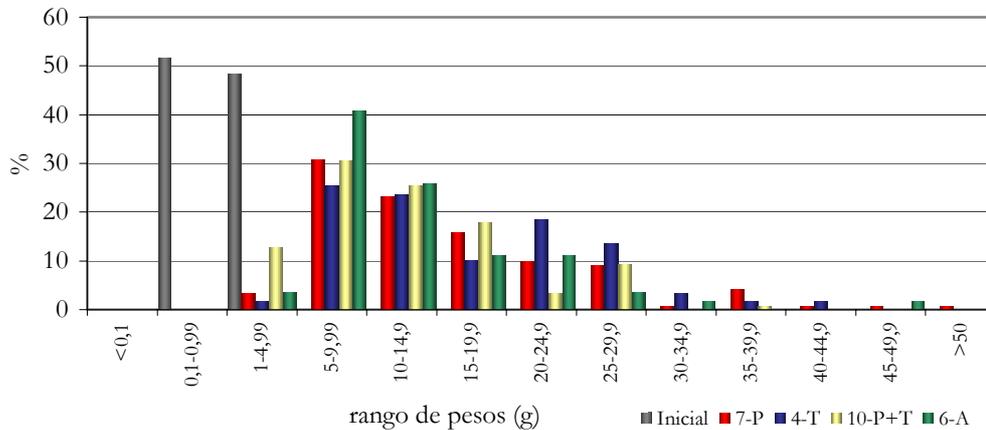


Fig.3.13. Distribución de pesos en los tanques pertenecientes al grupo de *cabezas* al final de la experiencia (día 215). P pienso con pepsina, T pienso con tripsina, P+T pienso con pepsina y tripsina y A fórmula base.

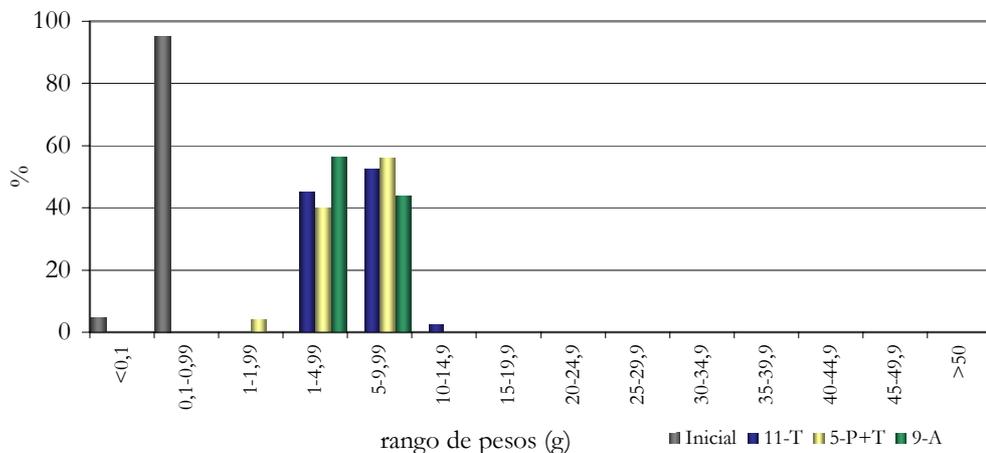


Fig.3.14. Distribución de pesos en los tanques pertenecientes al grupo de *colas* al final de la experiencia (día 215). T pienso con tripsina, P+T pienso con pepsina y tripsina y A fórmula base.

## Lote 2

### Crecimiento

En la Tabla III.19. se muestran los resultados obtenidos en los muestreos realizados durante el período experimental en el Lote 2. El primer muestreo que se considera fase experimental es el realizado a día 30,

considerándose fase de adaptación el tiempo transcurrido entre los días 1 y 30. Los muestreos de los días 161 y 205 constituyen recuentos totales de la biomasa del tanque, mientras que el resto son muestreos parciales.

Como se observa en la Tabla siguiente el pienso control (A) y el pienso con tripsina (T) no disponen de una repetición tal como sucede en el pienso con pepsina, lo cual se debe a sendos accidentes que provocaron la mortalidad del conjunto de los peces incluidos en los tanques 3 y 14.

Tabla III.19. *Crecimiento registrado a lo largo de la experiencia. Se expresan la media de pesos individuales (P en g) y de longitud total (Lt en cm), siendo N número de individuos, M media y ES error standard.*

Días exp.		30	67	115	161	205
Tanque/Pienso		M (ES)	M (ES)	M (ES)	M (ES)	M (ES)
<b>1/P</b>	N	40	40	40	85	78
	P	1,04(0,09)	3,37(0,31)	12,92(1,01)	21,30(1,77)	35,53(3,88)
	Lt	4,51(0,13)	6,41(0,23)	10,10(0,26)	11,76(0,34)	13,68(0,52)
<b>13/P</b>	N	40	40	40	142	118
	P	1,05(0,13)	3,63(0,23)	7,49(0,71)	12,52(0,70)	21,86(1,24)
	Lt	4,65(0,13)	6,86(0,17)	8,66(0,31)	10,65(0,74)	11,73(0,23)
<b>2/T</b>	N	40	40	40	164	141
	P	0,95(0,07)	3,63(0,29)	9,30(0,72)	14,86(0,66)	25,99(1,25)
	Lt	4,44(0,12)	6,61(0,21)	9,03(0,25)	10,48(0,17)	12,24(0,21)
<b>12/A</b>	N	40	40	40	158	135
	P	1,06(0,08)	3,63(0,23)	10,14(0,82)	15,52(0,73)	28,33(1,59)
	Lt	4,57(0,16)	6,86(0,17)	9,37(0,28)	10,64(0,18)	12,56(0,24)

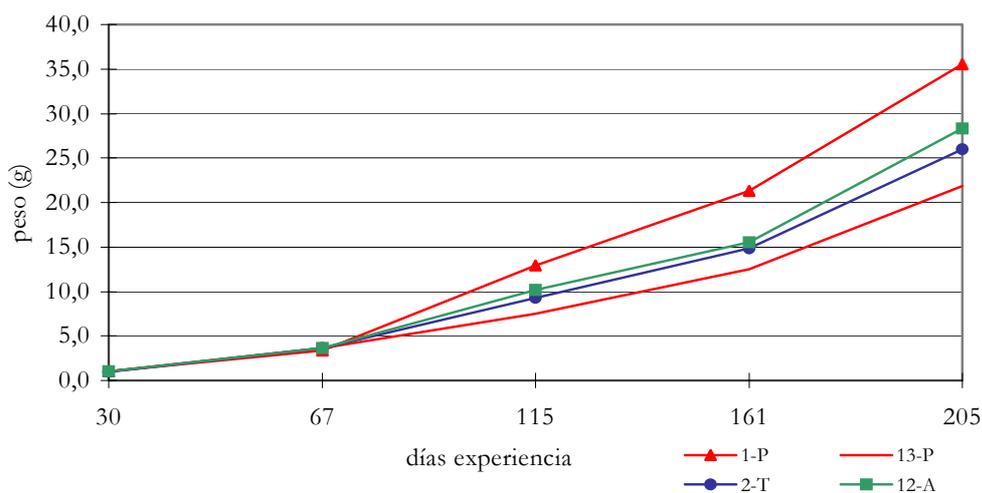


Fig.3.15. *Evolución del peso medio individual (g) en cada uno de los tanques experimentales; se expresa en cada caso el número de tanque y el pienso consumido, siendo P pienso suplementado con pepsina, T pienso suplementado con tripsina y A fórmula base.*

Si se compara el crecimiento en los dos tanques que han recibido pienso con pepsina, (1 y 13) se advierten diferencias importantes cuya justificación se halla en la Tabla III.13., ya que en el tanque 1 la tasa de alimentación recibida realmente ha sido mayor de la prevista.

En la expresión gráfica de la evolución del peso a lo largo de la experiencia (Fig. 3.15.) destaca claramente el tanque 1 que ha recibido un manejo diferente. Si se consideran los otros tres grupos, el que alcanza un peso superior es el alimentado con pienso con tripsina, seguido del control y seguido por el pienso con pepsina.

En la Tabla III.20. se indican las tasas de crecimiento calculadas para el conjunto del período, en cursiva, (día 30 a día 205) y para las dos fases del mismo (día 30 a día 115 y día 115 al final).

Tabla III.20. *Tasas de crecimiento, siendo G (tasa de crecimiento específico o instantáneo)  $(\ln P_f - \ln P_i) / (t_f - t_i) * 100$  y  $\Delta L_t \text{ Rel}$  incremento relativo de longitud =  $(L_{t_f} - L_{t_i}) / L_{t_i} (t_f - t_i) * 100$ .*

	Días exp.	<b>30-115</b> (12jun-4sep)	<b>115-205</b> (4sep-4dic)	<b>30-205</b> (jun-dic)
<b>1-P</b>	<i>G</i>	2,96	1,12	2,02
	<i><math>\Delta L_t \text{ Rel}</math></i>	1,46	0,40	1,16
<b>13-P</b>	<i>G</i>	2,31	1,19	1,73
	<i><math>\Delta L_t \text{ Rel}</math></i>	1,02	0,39	0,87
<b>2-T</b>	<i>G</i>	2,68	1,14	1,89
	<i><math>\Delta L_t \text{ Rel}</math></i>	1,22	0,40	1,00
<b>12-A</b>	<i>G</i>	2,66	1,14	1,88
	<i><math>\Delta L_t \text{ Rel}</math></i>	1,24	0,38	0,99

Si se evalúa el conjunto del período (día 30-día 205), destaca claramente la tasa de crecimiento registrada en el tanque 1, los peces alimentados con los piensos T y A le siguen, sin que se puedan establecer diferencias claras entre ellos, y en último lugar se sitúa el pienso P (tanque 13).

La inferencia estadística, expresada en la Tabla III.21. muestra las diferencias significativas que existen entre los piensos al final de la experiencia. En este caso, los resultados obtenidos son más fácilmente interpretables debido a que en el muestreo inicial ( $t_i$ ) no existen diferencias significativas, pudiéndose considerar que al inicio del ensayo todos los lotes son homogéneos.

En el muestreo intermedio ( $t_m$ ) el tanque 1 que consume pepsina pero que está recibiendo un manejo diferente (mayor tasa de

alimentación) mejora sus resultados respecto al resto. El pienso control no se distingue estadísticamente de los tanques 2 y 13 que están recibiendo enzimas y tampoco se distingue del tanque 1. Este sería un excelente resultado para el pienso que solamente incluye aroma, ya que a pesar de no estar recibiendo un manejo “especial” el peso y longitud que alcanzan los peces no puede diferenciarse de aquel lote que ha sido tratado de forma diferente (tanque 1).

En el muestreo final ( $t_f$ ) los comentarios realizados en el párrafo anterior se cumplirían para la longitud pero no para el peso, parámetro para el cual destacan claramente los peces del tanque 1.

Tabla III.21. *Valor P obtenido en el test ANOVA y en el test de comparación de medias aplicados al factor pienso a tiempo inicial, día 30, ( $t_i$ ), tiempo medio, día 115, ( $t_m$ ) y tiempo final, día 205, ( $t_f$ ), para la variable peso en g (p) y para la longitud total en cm (Lt). Se expresa la media (M) para los piensos P, fórmula base + pepsina, T, fórmula base + tripsina, A fórmula base. Se indican los distintos niveles de significación con diferentes símbolos, del siguiente modo:  $\alpha \leq 0,05$ , \*;  $\alpha \leq 0,01$ , \*\*;  $\alpha \leq 0,001$ , \*\*\*; n.s. = no significativo. En cada uno de los tiempos ( $t_i$ ,  $t_m$  y  $t_f$ ) letras diferentes indican diferencias significativas.*

p (g)	$Mt_i$	Valor P $t_i$	$Mt_m$	Valor P $Mt_m$	$Mt_f$	Valor P $t_f$
<b>1-P</b>	1,04 a	0,7468 n.s.	12,92 a	0,0001 ***	35,53 a	0,0002 ***
<b>13-P</b>	1,05 a		7,49 b		21,86 b	
<b>2-T</b>	0,95 a		9,30 b		25,99 b	
<b>12-A</b>	1,06 a		10,14 ab		28,33 b	
Lt (cm)	$Mt_i$	Valor P $t_i$	$Mt_m$	Valor P $Mt_m$	$Mt_f$	Valor P $t_f$
<b>1-P</b>	4,50 a	0,7314 n.s.	10,09 a	0,0001 ***	13,68 a	0,0017 **
<b>13-P</b>	4,65 a		8,66 b		11,73 b	
<b>2-T</b>	4,44 a		9,03 b		12,24 b	
<b>12-A</b>	4,57 a		9,37 ab		12,56 ab	

Con la intención de profundizar un poco más en el posible efecto de la inclusión de enzimas y dadas las diferentes condiciones en las que se ha mantenido el tanque, se aplica de nuevo el tratamiento estadístico considerando solamente aquellos tres tanques para los cuales las condiciones experimentales han sido homogéneas. En la Tabla III.22. se observa cómo al tratar conjuntamente los tanques que han recibido suplemento de pepsina, suplemento de tripsina o pienso base, en igualdad de condiciones, aparecen diferencias que antes no se observaban.

Al tratar solamente estos tres lotes se detectan diferencias significativas entre los peces alimentados con fórmula base y los alimentados con pienso suplementado con pepsina. Los peces que han sido

alimentados con tripsina quedan en una posición intermedia entre ambos no pudiéndose distinguir de ninguno de ellos.

Tabla III.22. Valor P obtenido en el test ANOVA y en el test de comparación de medias aplicados al factor pienso a tiempo inicial, día 30, ( $t_i$ ), tiempo medio, día 115, ( $t_m$ ) y tiempo final, día 205, ( $t_f$ ), para la variable peso en g ( $p$ ) y para la longitud total en cm ( $L_t$ ). Se expresa la media ( $M$ ) para los piensos P, T, y A. Se indican los distintos niveles de significación con diferentes símbolos, del siguiente modo:  $\alpha \leq 0,05$ , \*;  $\alpha \leq 0,01$ , \*\*;  $\alpha \leq 0,001$ , \*\*\*; n.s. = no significativo. En cada uno de los tiempos, letras diferentes indican diferencias significativas.

$p$ (g)	$M_{t_i}$	Valor P $t_i$	$M_{t_m}$	Valor P $M_{t_m}$	$M_{t_f}$	Valor P $t_f$
<b>13-P</b>	1,04 a	0,5164 n.s.	7,49 b	0,0427 *	21,86 b	0,0053 **
<b>2-T</b>	0,95 a		9,30 ab		25,99 ab	
<b>12-A</b>	1,06 a		10,14 a		28,33 a	
$L_t$ (cm)	$M_{t_i}$	Valor P $t_i$	$M_{t_m}$	Valor P $M_{t_m}$	$M_{t_f}$	Valor P $t_f$
<b>13-P</b>	4,65 a	0,5537 n.s.	8,66 a	0,2099 n.s.	11,73 b	0,0413 *
<b>2-T</b>	4,44 a		9,03 a		12,24 ab	
<b>12-A</b>	4,57 a		9,37 a		12,56 a	

En las condiciones del presente trabajo, un pienso sin suplemento enzimático alcanza resultados muy similares a los conseguidos por un pienso que incluye enzimas exógenos y que se está distribuyendo a una mayor tasa de alimentación (comparación entre los tanques 1 y 12). Asimismo comparando piensos distribuidos a igual tasa de alimentación, el pienso base que sólo incluye aroma consigue los mejores resultados. Considerando el coste de los enzimas, se puede decir que su inclusión en los piensos, en las condiciones en que se ha realizado en la presente experiencia, no parece aportar un valor añadido a la alimentación utilizando la fórmula base. Los parámetros de manejo de la población, aún no bien definidos en lenguados deberían ser sujeto de un estudio más exhaustivo a la vista de la influencia que parecen tener en el rendimiento de la población.

### *Supervivencia*

Como en el lote anterior la mortalidad de este lote se produce de forma muy marcada durante el período de 30 días considerado fase de adaptación a los nuevos piensos (Fig. 3.16.). La adaptación se inicia, en este caso, al día siguiente de finalizar el destete.

Tal como se refleja en la Fig. 3.16. dentro de este mismo período de adaptación se inicia la estabilización de la mortalidad. En la misma Figura se puede observar que resulta difícil intuir una tendencia que

establezca diferencias entre piensos, ya que si bien durante los 10 primeros días el pienso con tripsina parece “proteger” a los peces que lo consumen, su rendimiento al final de los 30 días se equipara totalmente al control y es superado por el pienso con pepsina. Es decir que, o bien la mortalidad se produce por causas diferentes o bien los enzimas no se están aportando en la forma más adecuada (dosis, tipo, vía de incorporación) para que sean eficazmente utilizados por los peces.

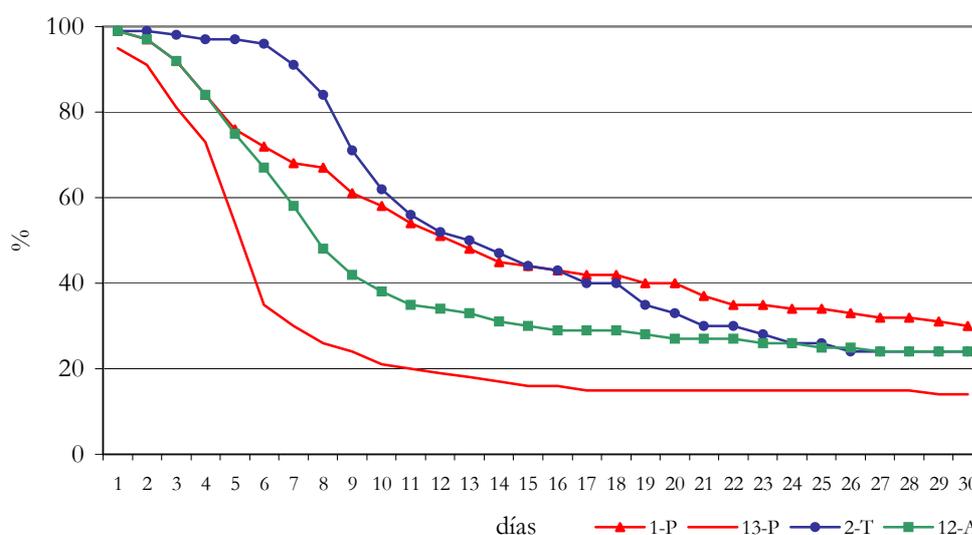


Fig.3.16. Evolución de la supervivencia durante el periodo de adaptación. Se expresa en cada caso el número de tanque y el pienso consumido, siendo P pienso con pepsina, T pienso con tripsina y A fórmula base.

Tabla III.23. Supervivencia en cada uno de los tanques a día 30 y a día 205 de la experiencia. Se expresa para cada tanque el tipo de pienso utilizado, el número inicial de individuos (N) y el porcentaje de supervivencia a los 30 días (final de la fase de adaptación) y a los 205 días (final de la experiencia).

Tanque-Pienso	1-P	13-P	2-T	12-A
N inicial	378	903	874	799
N a día 30	113	126	210	192
Supervivencia (d. 1-30)	30%	14%	24%	24%
N a día 205	78	118	141	135
Supervivencia (d. 30-205)	69,0%	93,7%	67,1%	70,3%
Supervivencia (d. 1-205)	20,6%	13,1%	16,1%	16,9%

En la Tabla III.23. se expresan los porcentajes de supervivencia registrados en cada uno de los tanques a día 30 (final de la

fase de adaptación) y a día 205 (final de la fase experimental). En dichos resultados tampoco se aprecia ninguna diferencia significativa (test  $\chi^2$ ) a favor de los piensos que incorporan enzimas digestivos.

### *Dispersión de tallas*

Se evalúa el incremento en la dispersión de tallas producido durante el período experimental en cada uno de los tanques. Las Figuras 3.17. y 3.18. muestran los histogramas de frecuencias a tiempo inicial y final respectivamente.

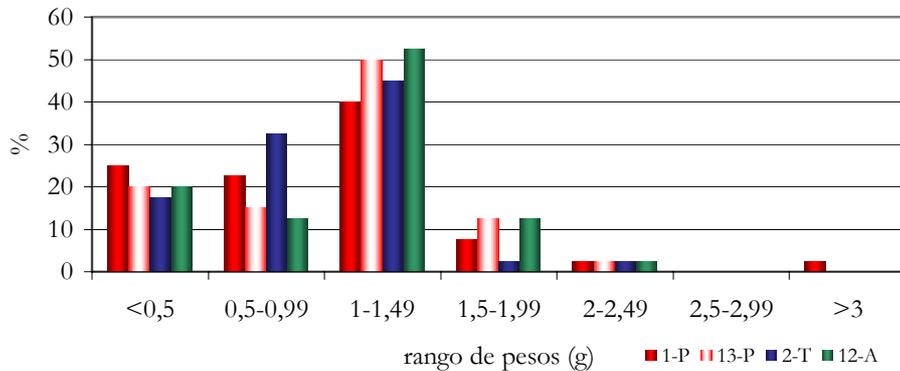


Fig.3.17. Distribución de los pesos individuales en el muestreo inicial de la experiencia (día 30), siendo P fórmula base+pepsina, T, fórmula base+tripsina y A fórmula base.

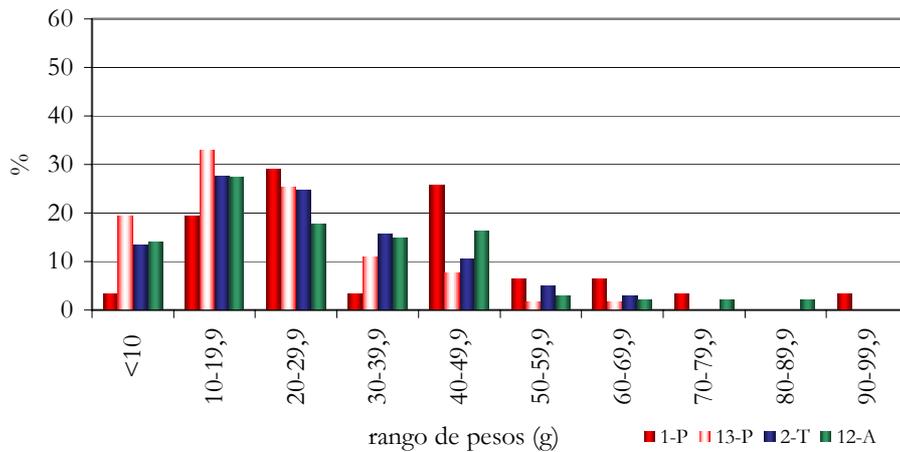


Fig.3.18. Distribución de los pesos individuales en el muestreo final de la experiencia (día 205).

En la distribución inicial de los individuos (Fig. 3.17.) destaca un elevado porcentaje de peces cuyo peso es inferior a 0,5 g de peso individual indicando una cierta heterogeneidad a pesar de la clasificación.

Al observar la distribución de pesos individuales al final de la experiencia (Fig. 3.18.) como es lógico destaca la población de peces del tanque 1, cuya media es superior a la del resto de grupos, alcanzando incluso un reducido porcentaje un peso próximo a 100 g. Resulta prometedor comprobar que con menos de 300 días de vida, algunos individuos prácticamente alcanzan los 100 g de peso, hallándose próximos a la talla comercial mínima que se sitúa en 125 g.

Otro elemento que también llama la atención es la distribución de pesos del control (12-A), cuyo rango de pesos se prolonga de forma parecida al del tanque 1. De nuevo, las diferencias parecen no poder imputarse a la incorporación de enzimas en el pienso.

### **3.5. Discusión de los resultados**

Para iniciar la discusión de los resultados obtenidos se considera interesante situar los problemas más importantes relacionados con el cultivo del lenguado retomando algunos elementos de la introducción del presente Capítulo. De acuerdo con lo expuesto más exhaustivamente en dicha introducción, aún hoy la opinión que parece desprenderse de la bibliografía sugiere que, no existiendo problemas técnicos insuperables para la producción de lenguado, resulta difícil obtener tasas de crecimiento y de supervivencia que superen las que se obtienen con alimentación viva (HOWELL, 1997) o en condiciones semiextensivas con un claro acceso a alimentación natural (DINIS *et al.* 1999). Si el objetivo es trabajar en condiciones intensivas, los mejores resultados, según diversos autores (entre otros CADENA-ROA, 1983; METAILLER, 1990; HOWELL, 1997), se consiguen con dietas que incluyen atrayentes químicos, en especial la betaína, de tal modo que a mayores porcentajes de inclusión mejores resultados. Esta opción tiene un elevado coste que hace que estas dietas sean inasequibles para el productor comercial.

Precisamente uno de los objetivos de la presente tesis es evaluar dietas capaces de ofrecer un rendimiento interesante para el

---

productor utilizando sustancias atrayentes, aromas comerciales en este caso, de menor coste que la betaína que pudiesen constituir una alternativa realista para la producción de lenguado a escala comercial. Debido a este interés por plantear propuestas factibles, los ingredientes utilizados para la formulación de los piensos experimentales debían ser aquellos que habitualmente se incluyen en las dietas comerciales.

En una explotación acuícola con fines productivos el rendimiento aportado por un pienso se valora considerando su capacidad de generar un crecimiento interesante garantizando a la vez una supervivencia aceptable. Crecimiento y supervivencia son, pues, dos parámetros que no pueden desligarse cuando se evalúa la evolución de una población. Asimismo, resulta interesante discutir la posible influencia de los piensos utilizados en la dispersión de tamaños de los individuos, dado que las poblaciones de lenguado parecen presentar una especial tendencia a la heterogeneidad, la cual representa una complicación en condiciones de cultivo industrial.

Con la finalidad de estimar el crecimiento ponderal exacto de una población determinada en un período de tiempo bastaría con tener en cuenta el número inicial y final de individuos así como su peso medio al inicio y fin del período. Lo que sucede cuando la mortalidad registrada en un período dado es muy elevada, bien porque incluye los primeros estadios de crecimiento bien por incidencias de manejo y/o patología, es que los resultados obtenidos al aplicar dicho procedimiento aportan poca información. Cuando se produce esta situación, puede realizarse un cálculo teórico del crecimiento de la población utilizando el peso medio y el porcentaje de supervivencia tal como lo estiman GIRIN *et al.* (1977) para obtener el Crecimiento Ponderal Bruto de la población ( $CPB = \text{peso medio final} / \text{peso medio inicial} \times \% \text{ supervivencia}$ ).

Para facilitar la discusión conjunta de los resultados obtenidos en este Capítulo, en la Tabla III.24. se muestra un resumen de los parámetros registrados en cada experiencia en lo que respecta a crecimiento y supervivencia. Se indican asimismo los valores de CPB aplicados a los resultados de esta tesis y a los reportados por diversos autores.

***Influencia del aroma sobre el crecimiento, supervivencia y dispersión***

Tabla III.24. Resumen de los resultados de crecimiento y supervivencia registrados en las experiencias 1, 2, 3 y 4. Se aportan: peso medio inicial, peso medio final y porcentaje de supervivencia durante la fase experimental valores necesarios para calcular CPB (Crecimiento Ponderal Bruto), así como el valor de G (tasa de crecimiento específico) y la duración del período experimental.

	Duración experiencia	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% supervivencia	CPB	G
<b>Exp. 1</b>	65 días					
	A	0,59	1,64	3,4	0,1	1,89
	B	0,64	2,18	21,2	0,7	2,27
	C	0,72	1,94	26,5	0,7	1,84
<b>Exp. 2</b>	58 días					
	Aa	3,06	3,68	72,9	0,9	0,32
	Ao	2,68	4,11	79,6	1,2	0,61
	Ba	3,02	3,04	75,0	0,8	0,0
	Bo	2,96	3,56	75,0	0,9	0,32
	Ca	2,86	4,21	69,4	1,0	0,67
	Co	2,69	4,06	73,5	1,1	0,71
<b>Exp. 3</b>	263 días					
	Ao	3,8	100,3	98,0	25,9	1,24
<b>Exp. 4</b>						
<b>Lote 1 cabezas</b>	158 días					
	P	1,08	15,77	45,4	6,6	1,7
	T	1,18	17,14	25,1	3,6	1,7
	P+T	0,95	12,42	61,1	8,0	1,6
	A	1,02	13,15	48,2	6,2	1,6
<b>Lote 1 colas</b>	158 días					
	T	0,17	5,20	17,6	5,4	2,16
	P+T	0,22	4,53	27,8	5,7	1,91
	A	0,26	4,84	5,1	1,0	1,87
<b>Lote 2</b>	175 días					
	P (1)	1,04	35,53	69,0	23,6	2,02
	P (13)	1,05	21,86	93,7	19,5	1,73
	T	0,95	25,99	67,1	18,4	1,89
	A	1,06	28,33	70,3	18,8	1,88
<b>Otros autores</b>						
ESTEBAN	100 días	0,37	3,4	93,3	8,6	2,83
<i>et al.</i> (1995)	90 días	4,63	19,7	95,8	4,1	1,60
		15,0	42,8	99,0	2,8	1,16
ESTEBAN	337 días	19,7	96,8	63,4	3,1	0,47
<i>et al.</i> (1997)	337 días	42,8	152,7	96,2	3,4	0,38
DINIS <i>et al.</i>	365 días	0,2	40,3	20	40,3	1,45
(1999)	365 días	0,2	456	8	182,4	2,12

En esta discusión se pretende integrar el conjunto de resultados obtenidos en las diferentes experiencias. Para estructurarla de un modo más conveniente se separarán los comentarios relativos a las diferentes etapas en el período de crecimiento de los lenguados. Básicamente se establecen dos partes: la primera de ellas incluye el período que se inicia justo cuando finaliza el destete o transición de presa viva a pienso (fase post-destete), mientras que la segunda incluye el resto del alevinaje, pre-engorde y engorde. Además se considera interesante evaluar el potencial de crecimiento y supervivencia de poblaciones de lenguado estimados a partir de los resultados de las

---

experiencias realizadas, información que resulta de gran interés para valorar su posible incorporación al sector productivo. Por último se incluye un apartado que hace referencia a aspectos de manejo que pueden ser interesantes para una futura transferencia al sector.

### 3.5.1. Resultados en la fase post-destete

Uno de los momentos más críticos en el ciclo vital del lenguado en condiciones de cautividad coincide con la finalización del tránsito de presa viva a pienso, es decir con el destete. La mortalidad que se registra después de esta transición suele ser elevada y se caracteriza por el hecho de no producirse de forma inmediata a la retirada de *Artemia* sino al cabo de unos 20 días de iniciada la alimentación con piensos (GIRIN *et al.* 1977). En el mismo período suele registrarse una tasa de crecimiento relativamente baja. Dentro de un determinado margen, estos pobres resultados suelen producirse con cierta independencia del momento y el modo como se realice la transición. Con el objetivo de optimizar tanto crecimiento como supervivencia, es en esta época tan crítica cuando más importante parece la incorporación a los piensos de sustancias capaces de mejorar la ingesta (sustancias atrayentes, incitantes, estimulantes) y/o la digestibilidad (enzimas exógenas).

En efecto, en las experiencias 1 y 4, que se inician justo después del destete y que estudian, respectivamente, la utilización de sustancias organolépticamente activas y de enzimas, se registra un incremento importante de la mortalidad al iniciarse la alimentación inerte, tal como describían GIRIN y coautores (1977). La dinámica no se inicia tras 20 días de realizada la transición tal como dichos autores reportan, sino antes, entre 5 y 10 días desde la retirada total de *Artemia*. Aunque se observan algunas diferencias más o menos importantes en la mortalidad registrada, ninguno de los piensos aportados consigue detener o reducir substancialmente esta mortalidad. A partir de unos 30 días de finalizado el destete se produce una cierta estabilización y a partir de ese punto la mortalidad parece reducirse gradualmente tal como se puede observar en la Fig. 3.20. incluida más adelante.

De acuerdo con las dos grandes propuestas para mejorar los resultados en este período, en la experiencia 1 se comparan piensos que incluyen diferentes sustancias organolépticamente activas, a saber, betaína y

aroma comercial, mientras que la experiencia 4 se comparan piensos que incluyen enzimas exógenos.

Cuando en la experiencia 1 se comparan dos piensos con betaína (B y C) con uno en el que dicha sustancia ha sido substituida por aroma comercial (A), son los piensos con betaína los que consiguen reducir más la mortalidad, de acuerdo con aquellos autores que defienden su uso como una solución adecuada para optimizar los resultados en esta fase. Asimismo, en dicha experiencia, estos piensos son los que arrojan mejores resultados de crecimiento en la época post-destete, sea utilizando como base la fórmula experimental (pienso B) sea utilizando la dieta comercial (C) que incluye betaína y aminoácidos.

Esta conclusión sería coherente con lo publicado por MACKIE *et al.* (1980) los cuales consideran que los lenguados tienen un requerimiento absoluto de betaína en su alimentación. Igualmente este resultado estaría de acuerdo con lo observado en el Capítulo anterior en el cual, aunque los piensos con aroma comercial despliegan una mayor capacidad de atracción, parece ser la betaína la que ofrece una mejor palatabilidad. La consecuencia inmediata de una mejor palatabilidad sería un incremento de la ingesta y por tanto un mayor crecimiento, lo cual explicaría los resultados registrados por los piensos con betaína en la experiencia 1.

No obstante, existe una discrepancia con los resultados reportados por MACKIE y coautores (1980). En dicho trabajo se afirma que los lenguados cuyo peso sea inferior a 2,5 g, requieren además de betaína la incorporación de algún aminoácido específico. En la primera experiencia, realizada con individuos que no alcanzan 1 g de peso, se pueden comparar las dos presentaciones que incluyen betaína. La que arroja resultados más interesantes en crecimiento es la que solamente incluye betaína (B) superando a los obtenidos por el pienso que además incluye aminoácidos (C). En cambio, éste último (C) es el que consigue un mejor porcentaje de supervivencia. Esta situación da como resultado un Crecimiento Ponderal Bruto (CPB) equivalente para ambos piensos (Tabla III.23.). Aunque se desconoce la composición exacta del pienso comercial, considerando que el pienso B no incluye aminoácidos, probablemente el coste de adición de atrayentes de este último sea menor y por tanto su rendimiento global, desde el punto de vista del productor, sería mejor ya que se consiguen unos resultados equivalentes a un menor coste.

---

En la experiencia 1, la supervivencia del pienso que solamente incluye aroma es notablemente inferior. Esta importante mortalidad ligada a la ausencia de betaína en la dieta no sólo ratificaría las opiniones de MACKIE *et.al.* (1980) en relación al requerimiento esencial de betaína en la primera etapa de la vida del lenguado, sino que sugeriría que, más allá de un papel organoléptico, la betaína podría jugar algún papel fisiológico o metabólico en los peces tal como indican CADENA-ROA *et al.* (1982).

METAILLER (1990) considera no solamente que la adición de betaína es necesaria sino que a mayor nivel de incorporación, mejores son el crecimiento y la supervivencia. Este autor, en un trabajo anterior de su equipo, reporta los mejores resultados con un nivel de inclusión del 7% (METAILLER *et al.*, 1983). Este porcentaje es superior al recomendado por MACKIE & MITCHELL (1985) o CADENA-ROA (1983) y al utilizado en el presente trabajo que es de un 3%. Según CADENA-ROA (1983) un porcentaje de 2,9% es suficiente para promover la conducta alimentaria, pero quizás para conseguir mejorar tanto la tasa de crecimiento como de supervivencia sean necesarios niveles más elevados de betaína de acuerdo con las recomendaciones de METAILLER (1990). Sería necesario valorar económicamente la mejora en crecimiento y supervivencia en relación con el coste de atrayentes. De igual modo sería interesante establecer el momento a partir del cual la dosis de betaína podría reducirse o incluso eliminarse sin que ello influyese negativamente en el rendimiento, puesto que en el trabajo de METAILLER *et al.* (1983), en el cual se consiguen supervivencias próximas al 80%, solamente se realiza el seguimiento de los individuos hasta el día 40 de vida.

Cuando se incluyen enzimas exógenos en los piensos, de acuerdo con la hipótesis que pretende atribuir la mortalidad post-destete a una posible deficiencia enzimática que afecta la digestibilidad, no se obtienen unos resultados suficientemente claros que permitan recomendar de forma indiscutible su uso con este fin.

Gran parte de la dificultad en extraer conclusiones definitivas de la experiencia 4 radica en las diferencias registradas entre los Lotes 1 y 2. Recordemos que dichos lotes están constituidos por peces prácticamente coetáneos (solamente 1 semana de diferencia en la eclosión) y obtenidos a partir del mismo stock de reproductores. El único elemento que les distingue claramente es la clasificación realizada en la *hatchery* sobre el Lote 2 de tal

modo que éste sólo incluye los individuos más grandes y sin malformaciones ni anomalías.

Los resultados registrados en el Lote 1 muestran una cierta reducción de la mortalidad durante el período post-destete en aquellos grupos de peces que reciben suplemento enzimático frente a los grupos de peces que reciben pienso base. Cuando se avanza en el ciclo vital de los individuos estas diferencias se diluyen y después de 200 días de experiencia no se puede confirmar que la presencia de enzimas contribuya a una mejora sensible de la supervivencia. Asimismo, cuando se evalúan las tasas de crecimiento los peces que consumen uno solo de los enzimas registran un crecimiento ligeramente mejor que los peces que consumen la combinación de ambos enzimas o que el control, pero siempre sin diferencias muy importantes. Por el contrario, si se observa el CPB que incluye la supervivencia, los peces que han recibido ambos enzimas presentan arrojan un mayor rendimiento.

En el Lote 2 ni el crecimiento ni la supervivencia son mejores en los peces que consumen enzimas exógenos, ni siquiera durante el período post-destete.

Se podría plantear la posibilidad de que la adición de enzimas exógenos deba realizarse de otro modo (dosis, vía de incorporación, tipo de enzimas, etc.) para conseguir resultados positivos a partir de su incorporación a los piensos para alevines. Pero también es posible que estos resultados puedan sumarse a las controversias que han ido surgiendo de forma paralela a la realización de esta tesis, sobre el equipamiento enzimático en las primeras edades de peces y por tanto el interés de incorporar enzimas en la dieta.

Existen en la actualidad dos grandes corrientes de opinión a este respecto. Un primer grupo de autores defiende la hipótesis que aquí se pretendía evaluar de forma preliminar, considerando que existe una deficiencia real de enzimas en los individuos muy jóvenes la cual es suplida por el propio aporte enzimático de las presas vivas. Varios trabajos anteriores establecen la ausencia de un equipamiento enzimático suficiente en varias especies de peces entre las que se encuentran los salmónidos (LAUFF & HOFER, 1984) y el lenguado (CLARK *et al.*, 1986). Sobre la base de estos trabajos, diversos autores determinan la contribución enzimática de las presas vivas a su propia digestión por parte de los peces. MUNILLA-MORAN *et al.* (1990) estiman en un 43-60% la contribución enzimática exógena en la

---

digestión proteica en larvas de rodaballo. Asimismo DAY *et al.* (1993) determinan que la ingestión de *Artemia* aporta hasta un 50% de la tripsina presente en lenguados (*S. solea*) de 4 días y un 30% en individuos de 11 días. Estos datos se traducirían en una importante dependencia de las larvas de especies marinas por la alimentación basada en presas vivas en las edades más tempranas.

Un segundo grupo de autores describe un escenario diferente en relación a este tema, considerando que la capacidad enzimática de las larvas es suficiente y que el problema está más ligado a la maduración y/o activación de dicho equipamiento digestivo. ZAMBONINO-INFANTE & CAHU (1994 a, b) determinan en larvas de lubina de 26 días de edad un equipamiento enzimático que, con la excepción de la tripsina, es capaz de adaptarse en respuesta a nuevas dietas, al igual que sucede en mamíferos. Ello indicaría la presencia de un equipamiento enzimático suficiente y eficiente en larvas de muy corta edad. La evolución de la tripsina registrada en dichos trabajos sugiere, según los autores, que la contribución exógena de este enzima es improbable y que en realidad su actividad sería regulada por ordenes genéticas y por el nivel proteico y perfil aminoacídico de la dieta. Asimismo dichos autores consideran que la pepsina juega un papel minoritario en los procesos digestivos larvarios y que por tanto su presencia no sería imprescindible para garantizar una elevada eficiencia digestiva, al contrario de lo que sugerían LAUFF & HOFER (1984). De acuerdo con estos resultados, la baja actividad de pepsina en lenguados hasta el día 200 de vida reportada por CLARK *et al.* (1986) que era interpretada como una limitación, sería un elemento de menor importancia según ZAMBONINO-INFANTE & CAHU (1994b).

RIBEIRO *et al.* (1999) llegan a conclusiones muy parecidas trabajando con *Solea senegalensis*, considerando que en dicha especie las larvas de 25 días de vida ya disponen de un modo de digestión adulto, independiente de la alimentación viva. De acuerdo con ello estos autores consideran que la introducción de piensos inertes en la secuencia alimentaria de las larvas es perfectamente factible.

A pesar de este volumen de resultados que atribuyen o restan importancia al equipamiento enzimático de los peces, la realidad indica que se siguen registrando tasas de crecimiento y supervivencia muy bajas en lenguados, y en general en larvas de especies marinas, después del destete. CAHU & ZAMBONINO (1994) explican esta incapacidad para crecer

adecuadamente a base de piensos diciendo que el destete con alimento compuesto antes de que el tracto digestivo esté realmente maduro puede alterar el normal desarrollo de la secreción intestinal y pancreática, atrasando algunos procesos digestivos ligados a la edad. Con la finalidad de estimular artificialmente la actividad enzimática endógena, CAHU & ZAMBONINO (1995) ensayan dietas con diferentes formas de nitrógeno y establecen que la presencia de hidrolizados de proteína en el pienso estimula la secreción de enzimas por parte de las larvas. En esta misma línea, MOYANO *et al.* (1996) señalan que precisamente los enzimas exógenos aportados por las presas vivas realizarían esta función estimuladora. Según dichos autores su papel sería más cualitativo que cuantitativo, actuando como activadores de los zimógenos endógenos de las larvas, posibilidad que ya había sido apuntada por KOLKOVSKI *et al.* (1993).

En la experiencia 4 que aquí se discute, los individuos utilizados fueron destetados a los 50 y 70 días de edad (Lote 1 y 2, respectivamente). De acuerdo con los resultados de RIBEIRO *et al.* (1999) con *S. senegalensis* se podría pensar que a esta edad los lenguados dispondrían de suficiente grado de madurez como para responder adecuadamente a la alimentación inerte. Ello podría justificar la ineficacia del suplemento enzimático y por tanto serían otras las causas del pobre rendimiento en este período. En el trabajo de KOLKOVSKI *et al.* (1993) en el cual se consiguen mejores resultados de crecimiento al incluir enzimas exógenos en un pienso para dorada, las larvas utilizadas tienen entre 20 y 30 días de edad; quizás en ese momento los enzimas exógenos pueden marcar la diferencia, sea por aporte directo (efecto cuantitativo) sea por activación de los zimógenos endógenos (efecto cualitativo).

Una posibilidad en relación a la inclusión de enzimas exógenos sería estudiar el efecto que dichos enzimas producen en la composición de la dieta, ya que parece lógico pensar que exista una cierta interacción con las proteínas de forma previa a su ingesta por los peces. Esto podría ser especialmente probable cuando los enzimas se incorporan en el interior de la mezcla de pienso y transcurre un cierto tiempo hasta su utilización, tal como se realiza en la presente experiencia (ver Anexo). Dependiendo de los resultados es posible que, en efecto, la inclusión de hidrolizados de proteína pudiese tener efectos positivos en los peces, en este caso por un incremento en la digestibilidad de la dieta. Esta es precisamente la propuesta de DAY *et al.* (1997) que ensayan dietas para lenguado con niveles crecientes de hidrolizados

---

de proteína entre el 0 y el 80%. Los autores determinan una mejoría de la supervivencia pero se plantean dudas al atribuirla bien a una mejora de la digestibilidad bien a una mayor palatabilidad del pienso como consecuencia de la lixiviación de las proteínas y aminoácidos solubles.

Evaluando de forma global los resultados se observa que en esta primera fase un pienso con una formulación sencilla a base de ingredientes habituales y un suplemento adicional de betaína, aporta unas tasas de crecimiento y supervivencia interesantes pero mejorables. Para optimizar la rentabilidad en este difícil período quizás se podría plantear un incremento considerable del porcentaje de betaína estrictamente restringido a la época de destete y post-destete, prescindiendo de ella en adelante.

### **3.5.2. Resultados en el resto del alevinaje, preengorde y engorde**

¿Qué sucede en una fase más avanzada del ciclo vital de los lenguados, aproximadamente a partir de los 2 g ya con una plena adaptación a la alimentación inerte?. MACKIE *et al.* (1980) consideran que el requerimiento de betaína perdura al menos hasta los 50 g de peso, llegando a afirmar que la betaína es una necesidad para el lenguado a lo largo de todo su ciclo vital. A la vista de los resultados que aquí se discuten no parece imprescindible la adición de betaína en estas fases más avanzadas del ciclo del lenguado. En una experiencia que empieza cuando los individuos tienen alrededor de 2 g de peso (experiencia 2), no se detectan diferencias significativas entre tres piensos, dos de los cuales incluyen betaína (B y C) mientras que el tercero incluye aroma comercial (Ao). A pesar de que no existen diferencias estadísticas, la tasa de crecimiento registrada por el pienso A es comparable a la del pienso que incluye betaína además de aminoácidos (dieta comercial, C). Los resultados en supervivencia son muy similares en los tres casos.

En la experiencia siguiente (experiencia 3), que se inicia cuando los mismos peces pesan unos 4 g, la población se mantiene durante 9 meses superando los 50 g establecidos por MACKIE y coautores, sin consumir betaína durante todo este período. Del mismo modo los dos lotes de peces de la experiencia 4, se mantienen hasta un peso medio de 15 y 35 g (Lote 1 y 2 respectivamente), sin haber consumido betaína a lo largo de su engorde, exceptuando la semana correspondiente a la fase de destete.

En la experiencia 3 el único pienso que consumen los peces incluye aroma comercial y en la experiencia 4, el mismo pienso, aquí denominado fórmula base, registra unos resultados de crecimiento y supervivencia comparables a los obtenidos por los piensos que incluyen enzimas exógenos. Considerando los resultados obtenidos por el pienso que sólo incluye aroma comercial, a partir del post-destete y en adelante, y teniendo en cuenta el coste más elevado de los que incluyen betaína y/o aminoácidos o enzimas, parece ser suficiente la incorporación de aroma comercial. Exceptuando la experiencia 1 en la cual el rendimiento de este pienso es claramente inferior, en el resto de experiencias los resultados obtenidos son comparables a los registrados por otros piensos con suplementos que encarecen su coste.

Como se recordará se evalúan dos presentaciones de aroma, una aplicada internamente mezclada con los ingredientes del pienso y otra aplicada externamente en disolución con el *coating* de aceite. La comparación establecida entre el pienso con aroma y el pienso con betaína hace referencia a la aplicación interna del mismo. En futuras experiencias se podría evaluar el rendimiento de dosis de aroma inferiores al 1,5% utilizado, con el objetivo de reducir más su coste. Por lo que respecta a la aplicación externa de aroma, los resultados de la experiencia 2 parecen indicar que su incorporación no aporta ninguna mejora a la capacidad de atracción del pienso, lo cual no sigue la tendencia que se infería en el capítulo anterior. Cabe decir que la experiencia 2 se realiza en condiciones de temperatura muy baja y en una situación de ingesta voluntaria mínima en razón de dicha temperatura. Podría ser interesante reevaluar los resultados en una situación en la que los lenguados estuviesen en condiciones más adecuadas para una ingesta más intensa y más discriminatoria.

### **3.5.3. Potencial de crecimiento y supervivencia del lenguado en las condiciones del presente trabajo**

Más allá de la comparación que se pueda establecer entre los piensos en cada experiencia, resulta interesante evaluar las tasas de crecimiento y supervivencia registradas en el conjunto del trabajo y en comparación con los resultados reportados por otros autores. Esta información puede añadirse al volumen ya existente de bibliografía sobre el potencial de crecimiento del lenguado en cautividad y su supervivencia en

---

diferentes condiciones y puede utilizarse para valorar las posibles perspectivas de incorporación a la producción industrial.

Si se considera el stock de lenguados utilizado para las experiencias 1, 2 y 3, al que denominamos Lote 0, cabe decir que su rendimiento es peor que el aportado por los otros dos lotes utilizados. A pesar de ello las tasas de crecimiento registradas son mejores que las reportadas por otros autores en condiciones similares. El elemento que más condiciona a este lote es su destete que se realizó de forma muy tardía a los 200 días de vida cuando lo habitual es realizarlo entre los días 30 y 60. Adicionalmente, la nutrición larvaria durante el período previo al destete fue muy deficiente. Parece obvio atribuir el pobre rendimiento de este lote al retraso sufrido en origen. HOWELL (1997) considera como consecuencia de trabajos anteriores realizados por su mismo equipo, que la calidad de la dieta durante los estadios larvarios puede tener un efecto perdurable en las características de los peces cultivados, si bien también es cierto que la persistencia de estos trazos no está aún completamente demostrada, tal como señala el autor.

La comparación de la evolución registrada por los tres lotes utilizados en este trabajo permitiría secundar la opinión de HOWELL (1991) sobre la importancia de lo sucedido en los estadios larvarios. Entre dichos lotes no solamente existen diferencias en la transición de presa viva a pienso sino en el manejo recibido durante la fase larvaria. Las diferencias de manejo se concretan en la clasificación realizada en cada caso. En la *hatchery* el Lote 0 (experiencias 1, 2 y 3) sufre, tal como ya se ha dicho, severas deficiencias nutricionales y no es sometido a ninguna clasificación. El Lote 1 recibe una alimentación adecuada y no sufre ninguna clasificación en origen. Esto implica que la separación por tallas se realice en las instalaciones experimentales dando lugar a dos sublotes, *cabezas* y *colas*. El Lote 2 también recibe una alimentación larvaria adecuada y además sufre una clasificación en la *hatchery* que descarta a los individuos más pequeños y con problemas.

A modo de resumen para la presente discusión se elaboran las Figuras 3.19. y 3.20. en las cuales se expresa gráficamente la evolución del crecimiento en relación con su edad y la evolución de la supervivencia en relación con los días transcurridos desde el fin del destete. El objetivo de esta comparación es evidenciar las posibles diferencias ligadas al manejo en origen y durante el estado larvario, sin tener en consideración las diferencias debidas al pienso utilizado.

Comparemos los pesos a día 300 de vida, edad hasta la cual se dispone de información referente a los Lotes 1 y 2 (Fig. 3.19.). Es importante considerar que para la presente comparación no se tiene en cuenta la dispersión de pesos en cada lote sino solamente el valor de la media. A día 300 de vida la situación de cada uno de los lotes es la siguiente:

- el Lote 0 tiene un peso medio de 3 g
- el Lote 2 ya alcanza un peso medio de casi 30 g
- el Lote 1, en el grupo de *cabezas* el peso medio alcanza los 15 g mientras que en el de *colas* la media se asemeja mucho al Lote 0 con un peso próximo a los 5 g.

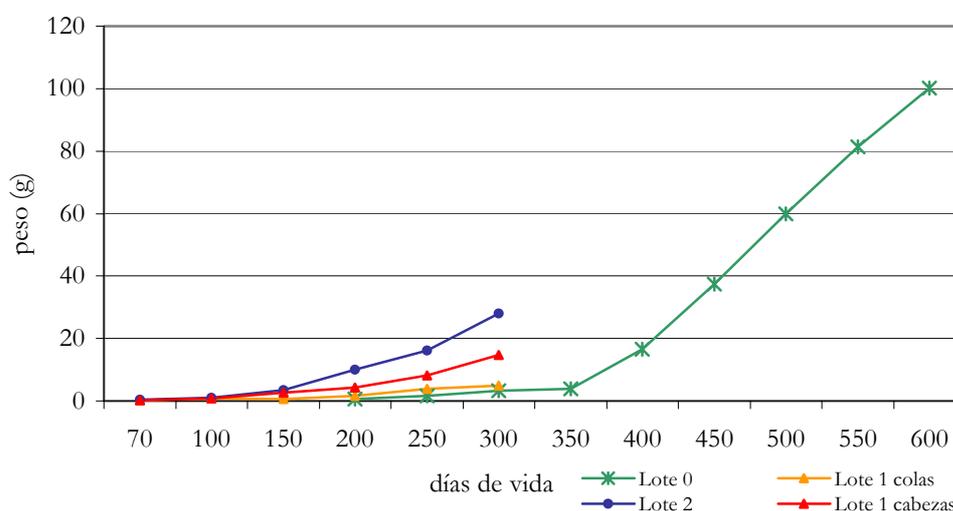


Fig. 3.19. Evolución del peso medio en cada uno de los tres lotes utilizados en las experiencias en relación con su edad. El Lote denominado 0 es el utilizado en las experiencias 1, 2 y 3. Los lotes 1 y 2 son los utilizados en la experiencia 4.

Si además de considerar la media de cada lote se analiza la dispersión dentro de cada uno de ellos las diferencias son mucho más acentuadas. De hecho, en una situación de producción comercial se realizarían clasificaciones a lo largo del ciclo productivo que permitirían potenciar el crecimiento de los individuos más aptos para mejorar la rentabilidad del conjunto.

A los 300 días de edad, un 8% de los individuos del Lote 2 ya supera los 50 g e incluso existe algún lenguado que prácticamente alcanza los 100 g de peso individual. El Lote 0 no incluye un porcentaje similar de individuos de 50 g hasta el día 450; a los 600 días de vida incluye un 14% de

---

los individuos que supera los 100 g y sólo un pequeño porcentaje de ellos supera los 250 g.

Según HOWELL (1997) la talla mínima comercial para lenguados se sitúa en unos 125 g de peso individual. Aplicando la tasa de crecimiento específica promedio (G) registrada en el Lote 2 a lo largo del período experimental, se podría estimar que algunos de los individuos de dicho lote estarían en situación de salir al mercado con 125 g a una edad de 315-320 días y el resto del lote a una edad aproximada de 400 días.

Suponiendo la misma tendencia, se puede estimar que el Lote 0 alcanzaría un peso medio de 30 g a los 450 días de edad, lo que representaría una diferencia de 150 días en relación con el rendimiento conseguido por el Lote 2. Cabe destacar que existen muy pocas probabilidades de que un piscicultor comercial mantenga un lote de características tan deficientes como el Lote 0.

Utilizando los datos experimentales de IRVIN (1973) y FONDS (1975), HOWELL (1997) estima en unos 300 días el período necesario para engordar lenguados hasta la talla comercial mínima, considerando que la temperatura se mantiene próxima al óptimo durante todo el período y utilizando una dieta natural. Después de dicha estimación el autor se cuestiona si dicha tasa de crecimiento podría conseguirse con piensos compuestos. Pues bien, en el presente trabajo individuos mantenidos en termoperíodo natural oscilando entre unos 14 y 28°C y alimentados con un pienso compuesto podrían alcanzar la talla comercial mínima en poco más de 300 días. Este podría ser un resultado optimista para una posible transferencia al sector productivo.

Siguiendo con las comparaciones con resultados de diferentes autores se pueden utilizar los resultados de GUINEA (1989). Considerando una temperatura constante a lo largo del período tal como se expresa en la Fig.3.3. (apartado 3.1.2.2.), el potencial de crecimiento calculado según GUINEA parece superior al estimado por HOWELL (1997). Según este autor a 25°C constantes, individuos de 5 g alcanzarían unos 125 g de peso en unos 7 meses (210 días), mientras que a 20°C el tiempo necesario es, obviamente, algo superior, necesitando 270 días. Al calcular el período necesario para talla comercial a 15°C se observa una caída decisiva del ritmo

de crecimiento, siendo necesarios casi 600 días (19 meses) para que individuos de 5 g alcancen los 125 g de talla comercial.

Los valores de tasa de crecimiento específica (G) aportados por GUINEA (1989) pueden aplicarse al Lote 2 pero teniendo en cuenta la dinámica real de temperaturas registrada en las instalaciones experimentales empleadas para el presente trabajo. Dicho procedimiento cambia la perspectiva radicalmente ya que, en este caso, el tiempo necesario para alcanzar los 125 g asciende a 450 días.

Esta gran diferencia ligada a la existencia de un termoperíodo natural obliga a enfatizar el importante efecto que las bajas temperaturas tienen en el crecimiento del lenguado. De hecho, cuando las experiencias de este trabajo se han realizado en período invernal, se ha hecho patente esta influencia negativa. La experiencia 2, en la cual se han registrado tasas de crecimiento realmente bajas con todos los piensos, se realiza entre enero y marzo con temperaturas entre 12 y 15°C. Estas temperaturas no sólo se hallan por debajo del óptimo para la especie sino que están muy próximas a la temperatura a la cual se detiene la ingesta voluntaria de los lenguados, que FONDS & SAKSENA (1977) establecen en 10°C. Asimismo en la experiencia 3, la tasa de crecimiento específica baja consistentemente en cuanto la temperatura se sitúa por debajo de los 20°C.

Tanto los resultados de HOWELL (1997) como los de GUINEA (1989) hacen referencia a *Solea solea*. Dado que la especie aquí utilizada es *Solea senegalensis* resulta de sumo interés establecer comparaciones con resultados específicamente referentes a esta especie, aunque aún aparecen sólo de forma ocasional en la bibliografía. Básicamente existen dos trabajos (ESTEBAN *et al.* 1997; DINIS *et al.* 1999) en los que se han mantenido *S. senegalensis* en cautividad y alimentados con pienso durante todo un año.

En el trabajo de DINIS *et al.* (1999) los individuos se mantienen en estero, en condiciones de policultivo con dorada, alimentados con pienso y en termoperíodo natural de la zona del Sur de Portugal. Partiendo de individuos ya destetados (0,2 g aproximadamente) se consiguen ejemplares de 456 g de peso después de 1 año. El crecimiento registrado por estos peces es muy interesante, con una tasa de crecimiento específico (G) en el conjunto del período de 2,12. Por otra parte es preciso

---

matizar que la supervivencia de este lote es muy reducida (8%) con lo cual se podría plantear la posibilidad de que los individuos supervivientes fuesen los más aptos de la población y, por tanto, ese valor promedio que alcanza casi el medio kilo por individuo, sea el de las ‘cabezas’ del lote.

No son tan interesantes los resultados obtenidos por ESTEBAN *et al.* (1997) utilizando un pienso para dorada, ya que individuos de casi 20 g de peso alcanzan justo un peso medio de 100 g después de 337 días de mantenimiento a una temperatura de 19°C. Este crecimiento implica una tasa de crecimiento específica de 0,47. Otro lote en el mismo trabajo aporta una tasa de 0,38 en el mismo período e iguales condiciones, pasando de un peso de 43 g a 153 g, resultados que tampoco son muy esperanzadores.

De nuevo al comparar la presente experiencia con ambos trabajos existen importantes diferencias de temperatura. Esta no se halla indicada en el trabajo de DINIS, pero con toda seguridad es más elevada en el Sur de Portugal que en el Delta de l'Ebre, mientras que en el trabajo de ESTEBAN y coautores se cita una temperatura constante de 19°C.

En las experiencias de DINIS y su equipo, por el hecho de mantener a los peces en estero, existe la posibilidad de que los individuos tengan acceso a alimentación natural complementando las posibles deficiencias que un pienso de dorada puede presentar para lenguados; mientras que en ESTEBAN *et al.* (1997), en el cual se indican condiciones de cultivo intensivo en tanques, posiblemente el pienso de dorada, tenga una importante influencia en los resultados.

Esta diferencia entre condiciones de cultivo intensivo y extensivo, con mejores resultados del segundo respecto del primero, se observa también en el trabajo de MORINIÈRE (1983) con *S.solea* en el cual individuos mantenidos en una laguna costera con alimentación natural exhiben un crecimiento más importante que los mantenidos en condiciones de intensivo con alimentación basada en pienso compuesto de tal modo que alcanzan los 125 g en 16-17 meses. De hecho las condiciones citadas no parecen muy diferentes de las del medio natural. Según datos de GARCIA-FRANQUESA (1996), en el medio natural, individuos de *S.senegalensis* en el Delta de l'Ebre tardarían unos 3 años en alcanzar la talla mínima comercial de 125 g.

Para que todos estos resultados fuesen verdaderamente interesantes para el productor sería preciso que la supervivencia en dicho período de crecimiento también se mantuviese en unos márgenes adecuados. En la Fig.3.20. se pueden comparar los resultados de supervivencia registrados por los Lotes 0, 1 y 2. De nuevo parece existir una estrecha correlación entre la “calidad” del lote y su supervivencia ya que los valores más interesantes se producen en el Lote 2, seguido por el grupo de *cabezas* del Lote 1.

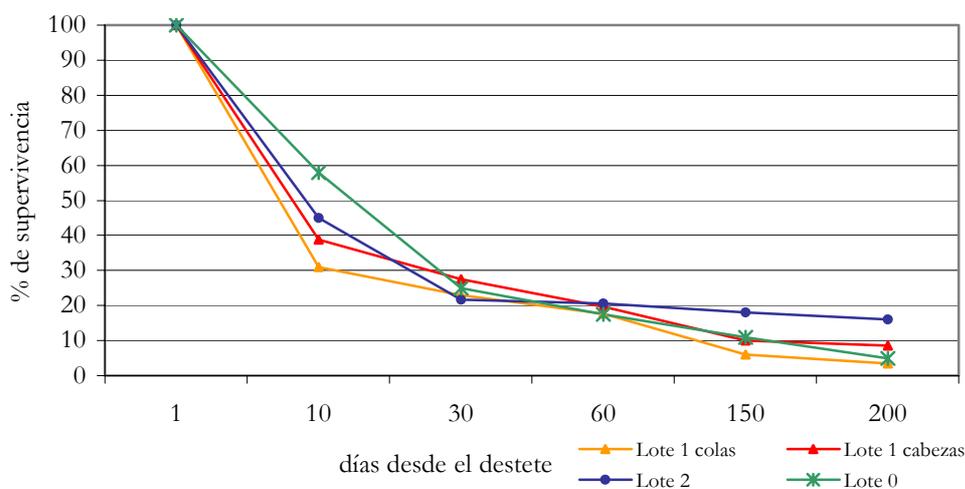


Fig. 3.20. Evolución del porcentaje de supervivencia desde el final del destete en cada uno de los tres lotes utilizados en las experiencias. El Lote denominado 0 es el utilizado en las experiencias 1, 2 y 3. Los lotes 1 y 2 son los utilizados en la experiencia 4.

En la Figura anterior se puede intuir una cierta tendencia a la estabilización, más o menos evidente según el caso, que se produce entre los 10-30 días posteriores al destete. Habitualmente el piscicultor adquiere los alevines cuando ya están habituados a las dietas, en el caso de dorada por ejemplo es relativamente habitual transferir los alevines desde la *hatchery* a la instalación de engorde cuando éstos tienen alrededor de 2 g de peso. A la vista de la evolución del Lote 2 queda claro que una estricta clasificación en la *hatchery* se traduce en una supervivencia mucho mejor en la instalación de engorde. En este Lote, si solamente se considera el período experimental obviando la mortalidad registrada en la fase de adaptación, la supervivencia final después de 158 días de experiencia se halla alrededor del 75% (Tabla III.24.). En la *hatchery* existen más posibilidades de aplicar un manejo más cuidadoso y también es allí donde podría utilizarse un pienso de mayor calidad, lo cual podría garantizar mejores resultados en el destete y post-destete tal como se indica anteriormente en esta discusión.

---

El análisis de la dispersión de tallas no sugiere la presencia de un efecto diferencial asociado al consumo de uno u otro pienso. En efecto, tras un período experimental relativamente largo, se detecta un incremento en la heterogeneidad de las tallas tal como reportan diversos autores trabajando con poblaciones de lenguado. Pero en este incremento ni siquiera parece existir una correlación con la realización o no de una clasificación previa, a la vista de las diferencias entre los Lotes 1 y 2. Tanto BARAHONA-FERNANDES (1990) como QUIRÓS & HOWELL (1993) consideran que la competencia entre individuos juega un papel determinante en la dispersión de tallas. En lenguados, considerando su hábitat y tipo de conducta, las interacciones entre individuos pueden ser frecuentes y el acceso al alimento puede quedar más restringido o monopolizado, favoreciendo la competencia. Por este motivo HOWELL (1997) recomienda el mantenimiento de bajos niveles de densidad y la elección de métodos de alimentación que no favorezcan la competencia. La distribución de alimento en el presente trabajo se realiza utilizando comederos de reloj y se prolonga prácticamente a lo largo de toda la noche, con lo cual se considera que existe suficiente acceso al alimento por parte de todos los individuos y que, por tanto, la competencia es reducida. Adicionalmente las densidades establecidas son bajas, alcanzando una densidad máxima alrededor de 3-4 kg m<sup>-2</sup> al final de las experiencias 3 y 4. Este valor se hallaría en la franja baja de los valores de densidad recomendados en la bibliografía para lenguado, por tanto tampoco parece que este parámetro pueda ser responsable de la elevada heterogeneidad.

En conjunto, la tendencia a la dispersión de tallas así como la evaluación del crecimiento y la supervivencia, obligan necesariamente a enfatizar la importancia de una correcta clasificación en origen y seguramente a lo largo del proceso de crecimiento. Los resultados de Crecimiento Ponderal Bruto que permiten analizar de una sola vez ambos parámetros, crecimiento y supervivencia, y que se hallan expresados en la Tabla III.21. lo reiteran. El Lote 2 registra un CPB entre 4 y 5 veces más alto que el registrado por el Lote 1, considerando respectivamente *cabezas* y *colas*, lo cual le convierte en un lote claramente más rentable para el productor. En el mismo sentido, es interesante recordar los resultados del Capítulo anterior en relación con la influencia del tamaño de los peces y su respuesta frente al alimento. De acuerdo con las conclusiones allí descritas los individuos más grandes no solamente despliegan una actividad de

ingesta más intensa, sino que se ven menos influenciados por un horario desfavorable. Estos elementos sumados a un potencial de crecimiento presumiblemente más elevado, constituirían una explicación muy plausible para los resultados que aquí se evidencian.

Considerando la aplicación de una clasificación en origen que descarte los individuos más pequeños y con anomalías, como la realizada en el Lote 2, el crecimiento y la supervivencia del lenguado registrados en el presente trabajo, parecen indicar una aptitud suficiente del lenguado para el cultivo comercial. Los resultados obtenidos por el Lote 2 no sugieren que la inclusión de enzimas aporte un valor añadido a los piensos, por tanto se puede considerar que la utilización de un pienso formulado en base a ingredientes habituales y con un suplemento de aroma comercial, permitiría plantearse con cierto optimismo un cultivo comercial de lenguado. Obviamente la generalización de los cultivos de lenguado aportaría con toda probabilidad la mejora necesaria de los niveles de rentabilidad, tal como ha sucedido en otras especies como la dorada y la lubina.

#### **3.5.4. Aspectos de manejo**

Para finalizar esta discusión, como consecuencia de haber mantenido lenguados en condiciones de cautividad durante varios años, se pueden introducir algunos comentarios relacionados con su manejo que pueden ser interesantes para avanzar en la futura implementación de los cultivos comerciales.

Uno de los aspectos más debatidos en referencia al cultivo de lenguado es la utilización de substrato de arena en los tanques. En el apartado 3.1.1.1. del presente Capítulo se aportan las diversas opiniones emitidas por los diferentes autores. Parece que existe un consenso en afirmar que la utilización de arena en el fondo de los tanques aporta ventajas para el lenguado: no se valora solamente su papel como agente profiláctico contra el síndrome BPN, sino también su función para reducir el estrés y como consecuencia de ello su capacidad para mejorar el aprovechamiento de los piensos. A pesar de estas ventajas, diversos autores intentan mantener cultivos de lenguado sin substrato básicamente por el hecho de que su presencia implica un manejo mucho más engorroso de los tanques. Ciertamente, si el manejo del substrato no es correcto su presencia

---

puede convertirse en un serio impedimento para mantener las condiciones higiénicas del tanque, tal como indica HOWELL (1997).

En el presente trabajo las poblaciones de lenguado se han mantenido en tanques de poliéster. En los períodos de adaptación y cuando se considera necesario de forma puntual, se ha incorporado arena solamente en una fracción del tanque, exactamente en la zona opuesta respecto a donde se realiza la administración del alimento. La presencia de arena en una fracción del tanque se ha demostrado eficiente desde diversos puntos de vista. Por una parte, permite a los lenguados enterrarse actuando como un eficaz agente profiláctico, e incluso terapéutico, frente a la BPN y otras lesiones causadas por la ausencia de un substrato arenoso, constituyendo además un hábitat menos estresante. Por otra parte, puesto que el alimento no ingerido se concentra mayoritariamente en la zona de fondo desnudo, se facilita la eliminación de los restos consiguiendo mantener las condiciones higiénicas generales del tanque.

A pesar de que, obviamente la utilización de arena implica un manejo más complejo que el que requiere un tanque de fondo desnudo, la metodología aquí aplicada permite conciliar las ventajas de un substrato de arena con un manejo relativamente sencillo, recomendando por tanto su aplicación de forma puntual en períodos especialmente sensibles.

En relación con la distribución del alimento, ésta se ha realizado siempre en horario nocturno utilizando comederos de reloj previamente programados para repartir alimento prácticamente durante toda la noche. Los ciclos diarios y estacionales de los peces constituyen uno de los factores más influyentes en su conducta alimentaria (BOUJARD & LEATHERLAND, 1992; ERIKSON & ALANÄRA, 1992). Múltiples trabajos se orientan hoy en día en este sentido, una vez ha quedado demostrada la posibilidad de mejorar el rendimiento de las explotaciones acuícolas a través del conocimiento de los ritmos endógenos de los peces y la sincronización de la alimentación con dichos ritmos (SANCHEZ-VAZQUEZ *et al.* 1995, 1996; SANCHEZ-VAZQUEZ & TABATA, 1998). En lenguado, concretamente, los resultados del anterior Capítulo enfatizan la importancia del horario en la respuesta de los peces al alimento. De acuerdo con todo ello, el método implementado para la administración del alimento se revela como un método válido para satisfacer los requerimientos del lenguado sin problemas prácticos de manejo.

Un último elemento a considerar surge de la comparación de los resultados obtenidos por los dos tanques (1 y 13) pertenecientes al Lote 2 (experiencia 4), los cuales consumen pienso con pepsina. Tal como se indicaba en la Tabla III.13. la distribución inicial de los peces introdujo importantes diferencias en el número de individuos entre estos dos tanques. Debido a esta diferencia, el tanque 1 se mantiene durante toda la experiencia con una tasa de alimentación mucho más elevada que el tanque 13. Se comparan estos dos tanques porque consumen el mismo tipo de pienso, pero la comparación podría generalizarse al resto de tanques de la experiencia. La consecuencia de esta situación se refleja en diferencias, estadísticamente significativas, detectadas en el crecimiento registrado por el tanque 1 en relación al tanque 13 pero también en relación al resto. El crecimiento de estos peces, que se han mantenido con una alimentación más abundante, es aproximadamente un 40% superior al del resto de lotes. Aunque los resultados de supervivencia no son muy diferentes, el Crecimiento Ponderal Bruto de este lote supera en un 25% aproximadamente al de los otros tres tanques.

Esta diferencia en crecimiento obligaría a revisar en profundidad los parámetros de manejo utilizados. Obviamente la información disponible hasta hoy sobre cómo debe llevarse a cabo el manejo de poblaciones de lenguado, es claramente insuficiente y debe necesariamente incrementarse. Con la finalidad de obtener un óptimo rendimiento, sería imprescindible la realización de experiencias que se planteasen como objetivo no solamente los problemas relacionados con la nutrición y la reproducción del lenguado, sino también los procedimientos de manejo más adecuados para esta especie.

---

### 3.6. Conclusiones

1. En la fase de post-destete, la cual se caracteriza por su baja supervivencia y reducida tasa de crecimiento, se han evaluado diversos suplementos en los piensos: por una parte, betaína y aroma comercial que modifican las características organolépticas y por tanto influyen en la ingesta y, por otra parte, enzimas exógenos que modifican la digestibilidad y por tanto influyen en el aprovechamiento de los piensos. Ninguno de los suplementos incorporados ha conseguido evitar o reducir substancialmente la característica mortalidad post-destete. El pienso que aporta los mejores resultados en esta fase tan crítica es el que incluye betaína, tanto en la fórmula experimental (B, dosis de incorporación 3%) como en la comercial (C) en la cual la betaína va acompañada de aminoácidos, ambos en una proporción desconocida. A la vista de los resultados parece que, de acuerdo con diversos autores, la betaína juega un papel importante y por tanto sería recomendable su incorporación a los piensos en esta fase del ciclo vital. Quizás la optimización de las tasas de crecimiento y supervivencia podría conseguirse con una mayor tasa de inclusión de betaína en el pienso, estrictamente restringida a este difícil período del ciclo vital del langostino.

Los piensos que incluyen enzimas no aportan resultados lo suficientemente claros, en este período, como para recomendar su uso en especial si se considera su coste. Su eficacia en los piensos post-destete debería plantearse a la luz de las nuevas hipótesis existentes sobre el equipamiento enzimático en larvas y quizás sería interesante estudiar de forma más exhaustiva el efecto de los enzimas sobre la composición de los piensos que los incluyen.

2. En un período más avanzado de crecimiento ni el pienso con betaína (experiencia 2) ni los piensos con enzimas (experiencia 4) parecen aportar resultados en crecimiento y supervivencia definitivamente mejores que el pienso con aroma comercial. Esta fórmula experimental se muestra capaz de sustentar un cultivo con unas tasas de crecimiento y supervivencia interesantes. Cabe destacar que se trata de una fórmula elaborada con ingredientes habituales en las dietas comerciales y fabricada utilizando procesos equivalentes a

los industriales. La aplicación de aroma en el interior aporta mejores resultados que la aplicación externa. La dosis de aroma incorporada en el interior de la mezcla podría ser revisada en experiencias específicas con la finalidad de poder optimizar su contribución al coste del pienso. En las condiciones del presente trabajo el aroma añadido externamente, a través del *coating* de aceite, no parece aportar un valor añadido a las características organolépticas del pienso (experiencia 2).

3. Cuando se utiliza un lote de lenguados que ha recibido un correcto manejo en origen, especialmente en referencia al destete y a la clasificación de ‘no aptos’ (individuos pequeños y con malformaciones), se obtiene un rendimiento productivo interesante. Los resultados obtenidos al comparar diferentes lotes de lenguados sometidos a diferentes manejos en origen, sugieren que este aspecto puede tener más importancia en el rendimiento final que el pienso utilizado, considerando las presentaciones empleadas en el presente trabajo. Utilizando individuos que han recibido un correcto manejo en la fase larvaria y que han sido clasificados en origen, se han obtenido lenguados que a una edad de 315-320 días alcanzarían la talla comercial (talla comercial mínima 125 g). En lo que respecta a supervivencia, si no se considera el período de adaptación posterior al destete y tras un período experimental de unos 160 días, se han conseguido supervivencias próximas al 75%. En las experiencias realizadas la dispersión de tallas no parece hallarse asociada al consumo de uno u otro tipo de pienso.

De acuerdo con todo ello, se considera sumamente interesante la aplicación de una correcta y estricta clasificación en origen, la cual permitiría optimizar considerablemente los resultados de rentabilidad durante el período de alevinaje, pre-engorde y engorde.

4. El dispositivo experimental utilizado en el cual el tanque dispone de una zona con substrato de arena situada en la parte opuesta a donde se realiza la administración de alimento presenta diversas ventajas. Por una parte, permite a los lenguados enterrarse actuando como agente profiláctico y reductor del estrés. Por otra parte, concentra la alimentación en un punto concreto durante un período prolongado

---

de tiempo reduciendo la competencia que se genera cuando no existe suficiente acceso al alimento. Y por último, permite mantener las condiciones higiénicas del tanque facilitando la limpieza, ya que la acumulación de restos se produce mayoritariamente en la zona de fondo desnudo y no en la zona con arena.

5. La diferencia en el rendimiento conseguido por dos lotes alimentados con el mismo pienso pero a una tasa de alimentación diferente, permite atribuir una gran importancia a los parámetros de manejo los cuales, en las condiciones concretas de este trabajo (experiencia 4), parecen tener más influencia que la utilización de uno u otro tipo de pienso. El conocimiento actual de los criterios de manejo en cultivos de lenguado debe necesariamente incrementarse de cara a optimizar su rendimiento para la futura incorporación de la especie al sector productivo.