



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

MÁSTER INTERUNIVERSITARIO EN ACUICULTURA



VNIVERSITAT
D VALÈNCIA

Composición nutritiva del pulpo (*Octopus vulgaris*) alimentado con piensos formulados con fuentes proteicas vegetales y animales

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Alumna: Carmen Aliaga Taberner

Directora académica: Dra. Ana Tomás Vidal

Director experimental: Jesús Cerezo Valverde

- Valencia, abril 2019 -

Agradecimientos

En especial a la Dra. Ana Tomás Vidal, directora de esta tesina final de máster, por ayudarme todo lo posible para sacar este trabajo adelante y llegar a tiempo. Gracias por tu apoyo, paciencia, y tu excelente orientación y supervisión hasta el último momento.

A Jesús Cerezo Valverde por hacer de coordinador externo de este trabajo, y por enseñarme y guiarme todo lo que pudo durante mis prácticas en el centro de investigación, tanto de lo que entraba como mi trabajo como del resto de cosas de las que podía empaparme estando allí.

Al IMIDA de San Pedro del Pinatar y a su directora María Dolores Hernández por permitirme realizar las prácticas en sus instalaciones a pesar del lío de papeleos que causó. Muy en especial a Tania, Irene, Jorge, Mari Carmen y Cristino por echarme una mano en el laboratorio, por hacerme compañía mientras esperaba entre un análisis y otro, y por la infinidad de consejos que me disteis. Con mucho cariño, a mis compañeras de prácticas Daniela y Clara por su compañía. Y al resto del personal, muchas gracias por vuestra hospitalidad.

A mi querido territorio comanche (Tania, Vicenç, Judit y el pequeño Elvisín) por haberme soportado en el piso cuando iba y volvía por no poder hacer las prácticas y por seguir haciéndolo un mes más de lo esperado por empezarlas tarde. Por esas cenas, consejos, ayuda y apoyo que todo el mundo debería tener la suerte de recibir.

A mis compañeros y amigos de máster por ayudarme y enseñarme tantas cosas de cada uno de sus conocimientos y vivencias. Y a los profesores por enseñarnos gran parte de sus conocimientos para poder entrar y guiarnos en el mundo de la acuicultura.

A mi familia y amigos, en especial a Guille e Irene, por ayudarme, apoyarme y aguantarme tanto durante todos mis estudios y la realización de este trabajo final de máster. A Mar, Jose y Dani por haberme hecho muchísimo más ameno el verano de prácticas y no dejarme dormir con tal de no parar de hacer cosas y que así pudiera despejarme y tener un verano fantástico a pesar de haber perdido completamente la esperanza después de los problemas burocráticos.

A Alejandro por apoyarme siempre, por meterme caña desde el principio para que no me pillase el toro, por confiar en mí en todo momento y ayudarme en la recta final cuando más me ofuscaba conmigo misma y con cómo y cuándo acabar.

Y por último, pero no menos importante, a Andrés, el que me hizo meterme en este mundo de la acuicultura con pulpos. A quien le debo todo lo que he logrado hasta ahora, el que me enseñó que hay que luchar hasta el final aunque sepas que este no será como tú crees o esperas. Hicimos una promesa y ahora más que nunca, la cumpliré por los dos.

Índice

1) Introducción	1
1.1) Estado actual de la acuicultura en España.....	1
1.2) Importancia comercial de la especie	1
1.3) Producción del pulpo común	1
1.4) Generalidades de la especie	3
1.5) Necesidades nutricionales.....	5
1.6) Dietas en el engorde del pulpo.....	6
2) Justificación y objetivos	15
3) Material y métodos.....	16
3.1) Captura y aclimatación de los animales	16
3.2) Elaboración de los piensos formulados.....	16
3.3) Diseño experimental.....	17
3.4) Recogida y conservación de las muestras	18
3.5) Métodos analíticos.....	18
3.6) Determinación de la digestibilidad	19
3.7) Parámetros calculados y análisis de datos.....	19
3.8) Análisis estadísticos.....	19
4) Resultados	20
5) Discusión	25
6) Conclusiones	30
7) Referencias bibliográficas	31

Resumen

En el presente trabajo se ha estudiado la aceptabilidad, digestibilidad, crecimiento y composición nutritiva del pulpo común (*Octopus vulgaris*) alimentado con cuatro piensos semi-húmedos: uno control formulado con fuentes proteicas marinas, y tres en los que dichas materias primas son sustituidas por concentrados de proteína de origen vegetal (soja o guisante) o harina de sangre. Los mejores resultados en el crecimiento se obtuvieron en el grupo control, donde los animales mostraron una Tasa Específica de Crecimiento de $1,22 \pm 0,10$ %P/día, seguido de los pulpos alimentados con soja, guisante y por último, el grupo alimentado con harina de sangre. Se observaron diferencias en la ingesta de los distintos piensos, dando un valor mucho más bajo en el caso del pienso con harina de sangre (11,78 g/día). La digestibilidad y la composición nutricional de la carcasa y la glándula no se vieron afectadas por el tipo de dieta. Los resultados sugieren que los ingredientes utilizados podrían ser utilizados en menores proporciones para conseguir una mejor aceptación o enriquecidos con los nutrientes esenciales para la especie y así obtener crecimientos similares a los obtenidos con las dietas con fuentes marinas en el pulpo. Este podría ser el punto de partida para desarrollar un alimento comercial más económico y ecológicamente rentable para esta especie.

Palabras clave: *Octopus vulgaris*, acuicultura, nutrición, crecimiento, fuentes proteicas

Abstract

This paper is aimed to study the acceptability, digestibility, growth and nutritive composition of the common octopus (*Octopus vulgaris*) fed with four semi-moist feeds: a control one formulated by marine protein sources and three in which the raw material has been substituted for plant-based protein concentrates (soy or pea) or blood meal. The best growth results came from the control group where the animals showed a Specific Growth Rate of $1.22 \pm 0,10$ %BW/day, followed by the octopuses fed by soy, peas and, last, the group fed with blood meal. Differences were observed in the intake of the different feeds, giving a much lower value in the blood meal diet (11.78 g/day). The digestibility and the nutritional composition of the carcass and the digestive gland were not affected by the different diets. The results suggest that the ingredients could be used in smaller proportions to achieve a better acceptability or enriched with essential nutrients for this species and, thus, to reach similar growth as the ones obtained with diets with marine sources on octopus. This could be the starting point to a more economic and ecologically profitable commercial feeds for this species.

Key words: *Octopus vulgaris*, aquaculture, nutrition, growth, protein sources

Resum

En el present treball s'ha estudiat l'acceptabilitat, digestibilitat, creixement i composició nutritiva del polp comú (*Octopus vulgaris*) alimentat amb quatre pinsos semi-humits: un control formulat amb fonts proteiques marines, i tres en els quals aquestes matèries primes són substituïdes per concentrats de proteïna d'origen vegetal (soja o pèsol) o farina de sang. Els millors resultats en el creixement es van obtenir al grup control, on els animals van mostrar una Taxa Específica de Creixement de $1,22 \pm 0,10$ %P/dia, seguit dels polps alimentats amb soja, pèsol i finalment, el grup alimentat amb farina de sang. Es van observar diferències en la ingesta dels diferents pinsos, donant un valor molt més baix en el cas del pinso amb farina de sang (11,78 g/dia). La digestibilitat i la composició nutricional de la carcassa i la glàndula no es van veure afectades pel tipus de dieta. Els resultats suggereixen que els ingredients utilitzats podrien ser utilitzats en menors proporcions per a aconseguir una millor acceptació o enriquits amb els nutrients essencials per a la espècie i així obtenir creixements semblants als obtinguts amb les dietes amb fonts marines en el polp. Aquest podria ser el punt de partida per a desenvolupar un aliment comercial més econòmic i ecològicament rendible per a aquesta espècie.

Paraules clau: *Octopus vulgaris*, aqüicultura, nutrició, creixement, fonts proteiques

1) Introducción

1.1) Estado actual de la acuicultura en España

La acuicultura es posiblemente el sector de producción de alimentos con el crecimiento más acelerado. Hoy en día representa casi el 50% de los productos pesqueros mundiales destinados a la alimentación (1). En 2016, la obtención de productos acuáticos provenientes tanto de acuicultura como de la pesca se redujo en un 5,3% respecto a 2015. Sin embargo, solo en el ámbito de la acuicultura, se produjo un incremento del 0,3% de la media anual con respecto a la producción de los últimos 10 años (2).

En 2017 las cifras totales de producción de acuicultura en España fueron de 345.635 toneladas (2), de las cuales aproximadamente un 83% está representado por los moluscos. Dentro del grupo de los moluscos, la producción mayoritaria en España se debe a la del mejillón (*Mytilus* spp.), incluyendo también en este grupo otros moluscos bivalvos y cefalópodos (3). En cuanto a los cefalópodos, según Guerra y Pérez-Gándaras (1983) las especies de mayor importancia comercial son la *Sepia officinalis*, el *Loligo vulgaris* y el *Octopus vulgaris*.

Por otro lado, el grupo de especies más estudiado es el de los peces, seguido de los moluscos, y las especies de peces sobre las que se han desarrollado más trabajos son la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la dorada (*Sparus aurata*) y la trucha (*Oncorhynchus mykiss*), mientras que los moluscos más estudiados son la ostra europea (*Ostrea edulis*), las almejas y el pulpo (*Octopus vulgaris*) (1).

1.2) Importancia comercial de la especie

El pulpo, y los cefalópodos en general, forma parte de la gastronomía de gran cantidad de países de la zona mediterránea y oriental, debido a que presenta un aprovechamiento corporal de entre el 80 y el 85%, mientras que los crustáceos tienen un 40-45% y los peces un 25-75%. Presenta un alto valor nutritivo: un elevado contenido proteico (70-85% del peso seco) (4), gran cantidad de minerales (sodio, potasio, calcio, fósforo, magnesio, cobre, hierro y cinc) (5,6), vitaminas (A, C, E, tiamina [B₁], riboflavina [B₂], niacina [B₃] y piridoxina [B₆]) (6-9) y β-carotenos (6), elastina, colágeno (5) y una cantidad inferior al 2% de lípidos en peso seco. Estos tienen elevados niveles de fosfolípidos, colesterol y ácidos grasos poliinsaturados (10), donde el 20-30% y 8,3-17,3% de estos está representado por ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3) y ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), respectivamente (7,11,12). Además, tiene un importante mercado y prácticamente ausencia de patologías (4).

1.3) Producción del pulpo común

El pulpo es una especie de interés para la pesca de muchos países (13) y representa un recurso pesquero muy importante en Europa (14). La pesca del pulpo común en el mundo tuvo un gran ascenso de capturas entre los años 1970 y 1980, capturando un máximo de 109.216 toneladas en 1975. Después de este periodo, se produjo un descenso de la pesca del pulpo debido

a la disminución de sus poblaciones naturales tras haber sido sobreexplotadas. Desde el año 2009, las capturas de esta especie se encuentran estancadas alrededor de las 40 toneladas anuales (1).

La producción de *Octopus vulgaris* se limita a individuos subadultos capturados del medio, engordándolos posteriormente utilizando tanques y jaulas. Esto se realiza principalmente en España, aunque también en otros países mediterráneos europeos (15). Su producción industrial comenzó en 1996 por las asociaciones de pescadores de Galicia (6), después de que Iglesias et al. (1996) publicaran información sobre las tasas de crecimiento. En 1997, se produjeron 12 toneladas de pulpo en Galicia, aumentando a 15 toneladas en 2000 (16). Actualmente, la producción del pulpo en España es inferior a un 0,0005% de la producción total en acuicultura en España, con un total de 1,24 toneladas de producción de talla comercial, las cuales se producen únicamente en Galicia (3,17). Esto podría deberse a que la tecnología disponible era escasa y no se había conseguido completar el ciclo biológico artificial a nivel industrial (6). Este ciclo de vida, desde embrión hasta un tiempo después de la eclosión, se consiguió lograr en condiciones de laboratorio en 2004, donde se consiguió que vivieran 356 y 339 días una hembra y un macho, respectivamente (15). Con estos se consiguió alcanzar un peso final de entre 1,4 y 1,8 kg, y se cree que podría deberse a que fueron alimentados en exceso y mantenidos en un rango de temperatura de entre 17 y 22,9°C (18). Actualmente, científicos de los centros oceanográficos de Vigo y Tenerife han conseguido mejorar la supervivencia y el crecimiento de las paralarvas (19) de un 3,4% a los 60 días (20,21) a un 75% a los 65 días (22), lo que podría contribuir a la explotación industrial y comercial de esta especie tan demandada por los mercados. Recientemente el Instituto Español de Oceanografía (IEO) y Nueva Pescanova han firmado un contrato por el que tienen una opción preferente de licencia de la Patente del IEO sobre estas investigaciones (19).

Por otra parte, el pulpo es un buen candidato para la acuicultura marina debido a que presenta unas características potencialmente idóneas para la cría comercial (4). Presenta un ciclo de vida corto, que puede abarcar desde los 9 hasta los 18 meses dependiendo de la temperatura (11,18,23,24); no presenta fases larvarias y tiene una elevada tasa de crecimiento de hasta el 5% de su peso corporal por día, y un 13% de aumento de peso corporal por día en subadultos. Estos subadultos, si son alimentados con descartes de peces y crustáceos, pueden crecer desde los 500-800 g con los que se capturan hasta alcanzar el tamaño comercial de 2,5-3 kg en tan solo 3 o 4 meses de engorde (15,25-27). Tiene también una alta tasa de conversión alimentaria con la incorporación de 30-60% de los alimentos ingeridos a su peso, dependiendo de la temperatura y la dieta (4,26,28,29). Asimismo, alcanza la madurez sexual en aproximadamente un año (4), presenta una alta fecundidad (100.000-500.000 huevos por hembra) (24), una rápida y buena adaptación a las condiciones de cautividad (4,24,30), una buena aceptación de alimentos inertes y una alta resistencia al manejo, transporte y estrés (24). Además, presenta un alto contenido proteico que, como se ha mencionado anteriormente, puede superar el 70% de su composición

corporal (25) y un alto valor de mercado (6), donde sus pesquerías se encuentran en declive (31).

Por todo lo arriba mencionado, el pulpo común (*Octopus vulgaris*) tiene un enorme potencial y es una opción interesante para introducirlo como especie acuícola. Sin embargo, la falta de piensos artificiales equilibrados y adecuados dificulta el avance y la producción de esta especie a nivel industrial.

1.4) Generalidades de la especie

El pulpo común (Figura 1) es uno de los cefalópodos más conocidos y uno de los más estudiados, sobre todo en el ámbito de crecimiento, producción, biología, comportamiento, fisiología y reproducción.



Figura 1. *Octopus vulgaris* (1)

En la Tabla 1 se describe la identidad taxonómica aceptada de esta especie en la actualidad (15,32-34).

Tabla 1. Identidad taxonómica de *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797)

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Clase	Cephalopoda
Subclase	Coleoidea
Superorden	Octopodiforme
Orden	Octopoda
Súper Familia	Octopodoidea
Familia	Octopodidae
Subfamilia	Octopodinae
Género	<i>Octopus</i>
Especie	<i>Octopus vulgaris</i>

Se trata de una especie bentónica nerítica que habita en una gran variedad de hábitats como mar abierto, fondos rocosos, arenosos (23,35), fangosos (35,36) y en arrecifes de coral (1), desde las aguas costeras hasta el borde de la plataforma continental (36), es decir, en profundidades de 0 a 200 metros (24,34). Se considera una especie cosmopolita (37) en aguas

tropicales, subtropicales y templadas de los océanos Atlántico, Índico y Pacífico, así como en el Mar Mediterráneo (13,34). Por otro lado, los límites de temperatura para esta especie varían entre los 7 y los 33°C (34), a partir de las cuales son inactivos (1). En cuanto a la salinidad, sus límites de tolerancia se encuentran entre las 32 y 40‰ (34).

El *Octopus vulgaris*, al igual que la mayoría de los pulpos, es una especie solitaria y territorial (1,34). Dentro de su rango de distribución, se sabe que esta especie realiza migraciones estacionales limitadas (1), y en ellas se han observado desplazamientos hacia la costa con el fin de llevar a cabo la reproducción, así como hacia zonas profundas donde crecen y maduran (34). En España la temporada principal de desove es en primavera, cuando hay una mayor productividad de alimento, pero dependiendo de la zona, puede haber uno o dos picos reproductivos (34).

Por otra parte, es una especie carnívora y un depredador activo desde su eclosión (38,39). Se alimentan de presas vivas (35), principalmente de crustáceos, moluscos, poliquetos, peces y un pequeño porcentaje de otros cefalópodos (1,34,35). Además, como ocurre en otras especies de pulpos, se ha observado canibalismo en esta especie (40,41).

En cuanto a sus brazos, son robustos en la base y presentan dos filas de ventosas; los laterales son más largos y el primer par es ligeramente más corto que el resto (34). El tercer brazo derecho de los machos, el hectocotilo, está modificado para transferir espermátóforos durante la cópula (42), y acaba en una língula pequeña (1,2 a 2,5% de la longitud del brazo) y en forma de cuchara (34,35).

Asimismo, se trata de una especie semélpara cuya puesta, generalmente, ocurre al final del ciclo de vida del organismo, que suele durar entre 9 meses y 2 años (11,18,23,24,43). Además, presenta un patrón de organización ovárica sincrónica donde los huevos son puestos en grupo y son bentónicos, por lo que se observa un patrón de freza total, una fecundidad determinada donde no hay maduración de ovocitos durante el periodo de desove. Presentan fecundación interna donde la duración de la cópula generalmente es larga llegando a durar una hora o incluso más (1).

Otra de las características del pulpo es su elevada fecundidad, dado que produce entre 100.000 y 500.000 huevos por hembra (1,25,34), dependiendo del tamaño de esta. Los huevos son pequeños ($\approx 2,5 \times 1$ mm), aunque relativamente grandes para un invertebrado, y están dispuestos en racimos con centenares de ellos ([Figura 2](#)) (1,34). Las hembras los adhieren a oquedades rocosas o a otros tipos de sustratos y cuidan de la puesta hasta su eclosión. Los recién nacidos miden 2 mm de longitud del manto y se encuentran en la fase planctónica durante un tiempo variable que depende también de la temperatura. Tras unos 30-40 días, cuando miden entre 6 y 7 mm, pasan a la fase bentónica (34), donde presentan un aumento diario del 13% de su peso corporal (24). Por último, podemos decir que el pulpo común tiene una rápida tasa de crecimiento (28), alrededor de un 3-5% del peso corporal por día (29,43-45), y un alta tasa de conversión del alimento, de entre el 30 y el 60% (43,45).



Figura 2. Uno de los racimos de la puesta con cientos de huevos

Las hembras de pulpo rara vez sobreviven al desove debido al agotamiento de cuidar los huevos y de no alimentarse durante ese periodo, de modo que la gran mayoría muere antes del segundo año. Lo mismo parece ocurrir con los machos, ya que si no, cabría esperar una población de animales que pesasen más de 5 kg en su segunda temporada de reproducción (1).

1.5) Necesidades nutricionales

Los primeros estudios acerca de las necesidades nutricionales en pulpos se basaron en pruebas con alimentos naturales a través de sustratos energéticos marcados, experimentos de ayuno, análisis bioquímicos y de la composición corporal de los propios cefalópodos (26,45-49). Actualmente se estima mediante el uso de dietas formuladas con una composición conocida (50-53).

El *Octopus vulgaris* se trata de una especie carnívora estricta (31,39,47), por lo que necesita grandes aportes de proteína en su dieta (39,48,54-56). Además, el metabolismo de los cefalópodos, especialmente del género *Octopus*, es esencialmente proteico (48), donde más del 90% de las proteínas sintetizadas son retenidas y utilizadas para su crecimiento (31,48,57).

Las proteínas son utilizadas como fuente de energía (catabolismo de aminoácidos), para la locomoción (actina y miosina), estructuras de soporte (colágeno), transporte de oxígeno (hemocianina) y osmorregulación (aminoácidos libres en hemolinfa) (26). Asimismo, los principales aminoácidos libres en los tejidos son octopina, prolina y arginina; mientras que los aminoácidos predominantes en las proteínas de los tejidos son ácido aspártico, ácido glutámico, leucina, alanina, lisina e isoleucina (26,47,48,54,55,58-60).

Los lípidos representan menos del 2% del peso seco de los cefalópodos (39,61) y tienen una función estructural (50,54,62) y energética (48,61,63). Dentro de estos lípidos se encuentran altos niveles de triglicéridos, fosfolípidos, colesterol y ácidos grasos poliinsaturados, especialmente Omega-3 (10,47,63,64). Asimismo, la glándula digestiva es el único órgano de los cefalópodos que presenta un elevado contenido lipídico (5,38-9,03%) con respecto al resto (63,65,66).

Por otro lado, en el pulpo común, los carbohidratos (CHO) se encuentran en cantidades

muy bajas (49), alrededor del 1-2% (peso seco) de la composición corporal (50). Sin embargo, se han observado diferentes cantidades, pero significativas, de CHO en los tejidos del pulpo común como 9% en la gónada, 5% en el músculo y un 4% en la glándula digestiva, todas ellas en peso seco (47,54,67). También, se ha observado que los cefalópodos tienen capacidad para digerir, almacenar y utilizar carbohidratos, lo que les proporciona energía rápidamente para actividades explosivas anaeróbicas (67,68) como la captura de presas o el escape rápido, esto se debe a que estos se catabolizan rápidamente (47,49,67).

Asimismo, se sabe que los cefalópodos tienen la capacidad de acumular altos contenidos de minerales en sus tejidos, sin embargo, no se tiene mucho conocimiento acerca de las necesidades nutricionales de estos (69). Estos minerales desempeñan un papel fundamental en la formación de estructuras esqueléticas, mantenimiento de la presión osmótica, y en la participación de diversos procesos metabólicos de enzimas, hormonas y transportadores de oxígeno (69,70). Por ejemplo, el sodio y el potasio son los elementos principales en los cefalópodos, representando el 54 y el 23%, respectivamente (5); el cobre se trata de un mineral esencial que interfiere en la síntesis de hemocianina, el pigmento que transporta oxígeno en la sangre (5,71); y el magnesio es esencial en muchas reacciones enzimáticas del metabolismo intermediario de los cefalópodos (69).

Actualmente, hay pocos estudios sobre los niveles de vitaminas en cefalópodos pero se sabe que en la naturaleza las necesidades vitamínicas se obtienen a partir de la dieta, sin embargo en condiciones de cautividad podría considerarse un factor limitante (47). Las vitaminas determinadas en los tejidos de los cefalópodos son vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B12, vitamina C, ácido fólico (8), y las vitaminas A y E en las primeras fases de desarrollo, esta última es elevada especialmente en ovarios, huevos e individuos juveniles de pulpo, sepia y calamar (9,47).

1.6) Dietas en el engorde del pulpo

Como ya se ha mencionado, los primeros estudios acerca del engorde en el pulpo y sus necesidades nutricionales se basaron en pruebas con alimentos naturales donde el objetivo era definir la aceptabilidad e ingestión de los distintos alimentos. Desde entonces se han llevado a cabo muchos trabajos en los que se han probado diferentes dietas naturales basadas en crustáceos principalmente *Carcinus mediterraneus*, *Carcinus maenas*, *Procambarus clarkii*, *Parapenaeus longirostris*, *Liocarcinus depurator*, *Hymenopenaeus muelleri*, *Plagusia depressa*, *Portunus pelagicus*, *Polybius henslowii*, *Callinectes sapidus* y *Portunus striatulus*; y distintas especies de peces como boga (*Boops boops*), lisa (*Liza aurata*), mújol (*Mugil cephalus*), merluza Europea (*Merluccius merluccius*), merluza del Pacífico sur (*Merluccius gayi*), bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), sardina (*Sardina pilchardus*), boquerón (*Engraulis encrasicolus*), sardina japonesa (*Sardinops melanostictus*), caballa (*Scomber scombrus*), tonino (*Scomber colias*), jurel (*Trachurus trachurus*) y faneca (*Trisopterus luscus*). Asimismo, se han probado diferentes dietas

naturales basadas en distintos moluscos, tanto bivalvos como cefalópodos, como mejillón (*Mytilus galloprovincialis*), mejillón de roca sudamericano (*Perna perna*), pota (*Illex coindetii*), calamar (*Loligo vulgaris*) y calamar patagónico (*Loligo gahi*) (45,50-53,72-93).

Con dietas naturales, en general, se ha conseguido que el pulpo alcance unas altas Tasas Específicas de Crecimiento (TEC), llegando a máximas de $2,95 \pm 0,58$ y $3,02 \pm 0,53$ % del peso corporal al día (%P/día), en pulpos alimentados con monodietas de mejillón de roca sudamericano (*Perna perna*) y gamba blanca (*Parapenaeus longirostris*), respectivamente (72,82). En cuanto a el Índice de Conversión (IC), a pesar de que se tienen menos datos, se ha observado que puede oscilar entre $1,60 \pm 0,10$ y $5,73 \pm 1,21$ en pulpos alimentados con una monodieta de boga (*Boops boops*) y una dieta mixta a base de boga (*Boops boops*), mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) y cangrejo mediterráneo (*Carcinus mediterraneus*), respectivamente (51,92). Por otro lado, en función del tamaño de los pulpos al final de la prueba, la composición corporal medida en peso seco ha sido de entre $71,78 \pm 1,48$ y $88,40 \pm 2,70$ % de proteína (51,92), $1,17 \pm 0,89$ y $6,10 \pm 0,60$ % de lípidos (50,51), $78,31 \pm 0,77$ y $86,30 \pm 2,14$ % de humedad (50,92) y $9,17 \pm 0,51$ y $16,96 \pm 1,69$ % de cenizas (50,92).

No obstante, estos excelentes resultados de crecimiento obtenidos con alimento natural no son sostenibles ni económicamente rentables para poder llevar esta producción a una escala comercial. Esto se debe a que la variación del precio de mercado y la disponibilidad de los peces, crustáceos y moluscos usados como base en las dietas naturales hace que no sean viables (94). Otro punto importante es la gran variabilidad de TEC, IC y de composición corporal en el pulpo según las diferentes dietas utilizadas (72,81,82).

Para conseguir un buen engorde de cualquier especie a nivel industrial se requiere una dieta artificial, ya que esta resulta más económica y sostenible (50). Es por ello por lo que se han llevado a cabo numerosas investigaciones en el desarrollo de un alimento artificial, ya sean piensos húmedos, semihúmedos o piensos secos extrusionados.

En primer lugar, el diseño de un pienso para pulpos debe centrarse en un aspecto y unas propiedades adecuadas para que resulte “atractivo” y que además pueda disponer de una buena aceptabilidad y sea ingerido por completo. Puesto que el pulpo manipula el alimento antes de comérselo, su pienso debe tener unas características físicas particulares, como que no flote, ya que al tratarse de un animal bentónico, se alimenta en el fondo marino. Como ya se ha mencionado, el pulpo manipula y trocea el alimento con su mandíbula antes de ingerirlo, por lo que el pienso debe ser estable para que permanezca íntegro el tiempo que se encuentre en el agua previo a la ingesta y debe tener una textura firme pero no granular. Asimismo, la palatabilidad es también una de las características más importantes a la hora de hablar sobre los piensos para pulpos, ya que si no les agrada su sabor son capaces de rechazarlo a pesar de llevar varios días sin comer (50).

Las primeras pruebas que se realizaron en el pulpo común con piensos húmedos

artificiales fue en 2008 a partir de alimento natural troceado o triturado (calamar, boga, camarones y langostinos), mezclado con agua y algún aglutinante (alginato o gelatina) para evitar su disgregación (50,53). El contenido en humedad en estos experimentos con piensos húmedos era de aproximadamente un 70-80%, lo que parece ofrecer una buena textura y por lo tanto una buena aceptación por parte de los pulpos. En general, los resultados de crecimiento en dietas húmedas fueron inferiores a los obtenidos con las dietas naturales, lo que parece deberse a una disminución en la digestibilidad o palatabilidad.

Cerezo Valverde et al. (50) probaron dos dietas a base de *Boops boops* y *Hymenopenaeus mulleri*, una de ellas con un 10% de gelatina y la otra con un 30% de alginato y un 10% de calcio como aglutinantes. Al final de la prueba se pudo comprobar que tenían mejor TEC e IC los pulpos alimentados con la dieta formulada con alginato, con un resultado de $0,71 \pm 0,30$ %P/día y $4,65 \pm 1,16$, respectivamente, frente a un $0,22 \pm 0,12$ %P/día y un $7,15 \pm 2,60$, respectivamente de los alimentados con la dieta formulada con gelatina. En cuanto a la composición corporal no se observó a penas diferencia entre ambas dietas (50). Asimismo, en otro trabajo se probaron dos dietas aglutinadas con gelatina, una de ellas con calamar (*Loligo gahi*) y otra con camarón (*Palaemonetes varians*) y se observó una gran diferencia entre ambos (53). En el caso del calamar se obtuvo una Tasa Específica de Crecimiento de $1,40 \pm 0,60$ %P/día mientras que con el camarón sólo se obtuvo un $0,60 \pm 0,30$ %P/día (53).

Estefanell et al. (51) probaron dos dietas aglutinadas con alginato y calcio, donde se usó como materia prima boga de diferentes procedencias (salvaje y de descarte). En este caso, la diferencia de TEC y de IC entre ambas dietas no fue tan grande, dando un valor de $1,50 \pm 0,20$ %P/día y $1,70 \pm 0,10$, respectivamente en el caso de la boga de descarte y un valor de $1,10 \pm 0,20$ %P/día y $1,90 \pm 0,10$, respectivamente en el caso de la boga salvaje (51). Por lo que podríamos decir que se obtuvo un mejor resultado con la dieta de boga de descarte, sin embargo, la diferencia es pequeña entre ambas y bastante grande con respecto a los resultados obtenidos a partir de dietas naturales. Respecto a la composición corporal no se encontraron diferencias en la carcasa, sin embargo, sí se observó una mayor cantidad de proteína en la glándula digestiva de los pulpos alimentados con boga salvaje, $73,20 \pm 3,20$ % frente a $44,90 \pm 6,20$ % de los pulpos alimentados con boga de descarte; y una mayor cantidad de lípidos en los individuos alimentados con piensos a base de boga de descarte, dando un valor de $46,20 \pm 6,20$ % frente a $28,30 \pm 3,50$ % de los pulpos alimentados con boga salvaje (51). De igual manera, Estefanell et al. (95) realizaron otro ensayo con tres dietas húmedas donde se utilizaron alginato y calcio como aglutinantes, consistía en una monodieta de boga, una dieta mixta de boga y cangrejo azul (*Portunus pelagicus*), y otra dieta mixta de boga y abuje negro (*Grapsus grapsus*) (95). En este estudio la diferencia de TEC entre las tres dietas fue muy pequeña, dando un valor de $0,83 \pm 0,15$ %P/día, $0,83 \pm 0,12$ %P/día y $0,80 \pm 0,09$ %P/día, respectivamente (95). En cuanto a la composición corporal no se encontraron grandes diferencias en la carcasa, sin embargo, en la glándula digestiva

sí se pudo observar que en el caso de la monodieta se obtuvo un $45,90 \pm 5,9$ % de proteína con respecto a $32,40 \pm 1,1$ % y $36,80 \pm 9,6$ %; y un $44,10 \pm 5,30$ % de lípidos con respecto a los $53,4 \pm 2,70$ % y $50,30 \pm 12,10$ % de las dietas mixtas con boga y cangrejo azul, y boga y abuete negro, respectivamente (95).

Por último, Cerezo Valverde et al. (96) probaron seis dietas húmedas a base de *Boops boops* y *Hymenopenaeus muelleri*, y aglutinadas con glutamato, tres de ellas bajas en lípidos (LL) y las otras tres elevadas en lípidos (HL). Dentro de cada uno de estos grupos se probaron distintas cantidades de alginato y se observó que los mejores resultados en ambos casos se daban en los piensos con mayor cantidad de glutamato (20 g/kg), llegando a obtener una TEC de $0,53 \pm 0,24$ %P/día en la dieta elevada en lípidos y $0,52 \pm 0,15$ %P/día en la dieta baja en lípidos (96). Referente a la composición corporal, cabe destacar que no se encontraron diferencias en la carcasa, aunque sí se vio que la glándula digestiva de los individuos alimentados con las dietas bajas en lípidos presentaba mayores niveles de proteína y niveles de lípidos mucho más bajos que los alimentados con dietas elevadas en lípidos. Asimismo, en ambos grupos el menor nivel de lípidos se presentaba en los pulpos alimentados con piensos formulados con 5 g/kg de glutamato (96).

Con todo esto podemos decir que el mejor resultado de crecimiento en dietas húmedas lo obtuvieron Estefanell et al. (51) y Quintana et al. (53). No obstante, a los buenos resultados con este tipo de dietas, al igual que ocurre con las dietas naturales, no son adecuadas para industrializar la fabricación de pienso para pulpos debido a su naturaleza perecedera. Esto supone una gran desventaja debido al alto coste de almacenamiento, ya que este tipo de alimentos debe mantenerse en cámaras frigoríficas para así evitar su deterioro y la proliferación patógenos debido al alto contenido en agua. Es por ello que la investigación actual se centra en el desarrollo y la producción de dietas semi-húmedas o extruídas a base de ingredientes secos para su mejor conservación, estabilidad e impacto ambiental en las granjas marinas.

Las dietas semi-húmedas tienen un contenido en agua de aproximadamente el 40-50 %, lo que disminuye el riesgo de la proliferación de patógenos en los piensos, su deterioro y el coste en su almacenamiento. Este tipo de ensayos comenzaron a publicarse en el año 2011 (52,78) y se ha llegado a obtener una TEC de $1,52 \pm 0,28$ %P/día y $1,48 \pm 0,19$ %P/día (97).

En 2011 García et al. (52) probaron dos dietas semi-húmedas a base de proteína de pescado hidrolizada (CPSP®), harina de pescado y pasta de calamar (*Loligo gahi*), en una de ellas se utilizó gelatina como aglutinante y en la otra alginato. Al final de la prueba se pudo comprobar que, a pesar de que ambas Tasas Específicas de Crecimiento son bajas, el pienso que contenía gelatina obtuvo mejores resultados de crecimiento ($0,21 \pm 0,28$ %P/día) que los de alginato ($-0,24 \pm 0,29$ %P/día) (52). De igual manera, en otro trabajo se realizó un ensayo donde se probaron 4 dietas similares a las dos anteriores, estas presentaban proteína de pescado hidrolizada (CPSP®) y gelatina o alginato en diferentes cantidades (78). En este experimento también se

observaron mejores resultados en las dos dietas que contenían gelatina, obteniendo una mayor TEC en la dieta con un 20% de este aglutinante que el que presentaba un 40%, dando unos valores de $0,89 \pm 0,58$ %P/día y $0,61 \pm 0,49$ %P/día, respectivamente (78).

Morillo-Velarde et al. (98) realizaron un experimento donde testaron dos dietas con gelatina, yema de huevo en polvo (huevo), alacha (*Sardinella aurita*), además, una de ellas tenía guisantes liofilizados y la otra, pota (*Todarodes sagittatus*) liofilizada. En este ensayo se pudo comprobar que tenían mejor TEC e IC el pienso formulado con pota, dando un valor de $1,00 \pm 0,10$ %P/día y $1,00 \pm 0,10$, respectivamente, mientras que el otro pienso obtuvo una Tasa Específica de Crecimiento de $0,30 \pm 0,10$ %P/día y un Índice de Conversión de $3,90 \pm 1,30$ (98). En cuanto a la composición corporal, se observó que no había diferencias en la carcasa entre ambas dietas, aunque sí se vio que la glándula digestiva presentaba mayor humedad, proteína y cenizas, y menor cantidad de grasa en el pienso realizado con guisantes liofilizados que en el pienso que contenía pota, llegando a encontrarse una gran diferencia entre un $5,50 \pm 2,90$ y un $35,00 \pm 10,90$ % de lípidos (98).

De igual manera, Celdrán Sancho et al. (71) realizaron otro ensayo con dos dietas semi-húmedas, una basal con gelatina, huevo, almidón, boga y pota, y otra con los mismos ingredientes que la anterior pero con una suplementación de un 0,2 g/kg de cobre (71). En este caso no se observaron diferencias en la TEC ni en cuanto a la composición corporal, aunque sí se pudo apreciar una pequeña diferencia entre el IC de la dieta basal ($1,25 \pm 0,22$) y el de la dieta suplementada con cobre ($1,30 \pm 0,29$) (71).

Morillo-Velarde et al. (99) mediante pruebas de aceptación de ingredientes, evaluaron piensos sencillos elaborados a partir de agua, gelatina y el ingrediente a estudiar, donde se encontraban 8 harinas vegetales, 2 harinas animales, 6 sustancias liofilizadas y 3 productos derivados del huevo. De los 19 piensos formulados, la mayor tasa de crecimiento fue obtenida con la dieta que contenían huevo ($0,67 \pm 0,30$ %P/día), mientras que el peor resultado lo obtuvo el pienso con harina de pescado ($- 2,39 \pm 0,10$ %P/día) (99).

Asimismo, en otro estudio (68) se probaron tres dietas semi-húmedas, una de ellas (control) contenía gelatina como aglutinante, huevo como atrayente, pota y alacha, otra dieta además incluía glucosa y la otra, en lugar de glucosa contenía almidón (68). Al final de la prueba se pudo comprobar que el crecimiento era mejor con la dieta que presentaba almidón y con la dieta control ($1,03 \pm 0,08$ %P/día y $1,02 \pm 0,07$ %P/día, respectivamente). Con relación a la composición corporal, en la carcasa se observó menor cantidad de proteína en los pulpos alimentados con el pienso que contenía glucosa, una mayor cantidad de lípidos en el pienso control y una proporción de cenizas mucho menor en el pienso con almidón (68). Por otro lado, en la composición nutricional de la glándula digestiva se obtuvo una menor cantidad de proteína en los individuos alimentados con el pienso con almidón y una menor proporción de lípidos en los pulpos alimentados con el pienso que contenía glucosa (68).

Del mismo modo, Morillo-Velarde et al. (10) realizaron tres dietas con una base de gelatina, huevina, pota y alacha, donde probaron distintas cantidades de aceite de bacalao (0, 100 y 200 g/kg). Tras la prueba se pudo comprobar que la dieta con la que se obtenía mejor TEC fue el que no presentaba este tipo de aceite ($0,91 \pm 0,11$ %P/día), seguido del pienso con menor proporción ($0,72 \pm 0,12$ %P/día) (10). En cuanto a la composición corporal, en la carcasa no se encontraron diferencias entre los distintos piensos, sin embargo, en la glándula digestiva sí se encontró una mayor proporción de proteína y una menor cantidad de lípidos en el pienso sin aceite de bacalao, dando unos valores de $49,11 \pm 0,52$ % y $36,69 \pm 0,46$ %, respectivamente (10). Por otra parte, se realizó un ensayo en el cual se probaron dos dietas con agua, gelatina, huevina, boga, pota, cangrejo, aceite de pescado, glucosa y almidón, además una de ellas presentaba como fuente proteica boga liofilizada y la otra, harina de boga (100). Tras la prueba se comprobó que los pulpos alimentados con el pienso con harina de soja presentaban mejor TEC ($0,85 \pm 0,09$ %P/día) que los alimentados con la dieta que presentaba boga liofilizada ($0,78 \pm 0,19$ %P/día). Referente a la composición corporal cabe decir que en la carcasa no se obtuvieron diferencias, pero en la glándula digestiva sí se observó una mayor cantidad de proteína y menor de lípidos en los individuos alimentados con harina de boga ($51,70 \pm 4,14$ % de proteína y $39,79 \pm 3,68$ % de lípidos) con respecto a los alimentados con boga liofilizada ($43,57 \pm 11,16$ % de proteína y $44,28 \pm 13,77$ % de lípidos) (100).

Cerezo Valverde et al. (101) probaron dos dietas bajas en lípidos a base de agua, gelatina, huevina, alacha liofilizada, pota liofilizada y almidón, una de ellas con una relación proteína/energía (P/E) media y otra con una relación P/E alta. Al final de la prueba se comprobó que la dieta con alta P/E presentaba una mayor TEC ($1,25 \pm 0,18$ %P/día) que la dieta con P/E media ($0,92 \pm 0,09$ %P/día), además también se observó una diferencia en el IC, donde se obtuvo un valor de $2,12 \pm 0,13$ en la dieta de P/E medio, y un resultado de $1,39 \pm 0,17$ en la dieta con elevado P/E (101). En cuanto a la composición corporal de la carcasa se produjo una diferencia entre un $2,69 \pm 0,32$ % de lípidos de los pulpos alimentados con P/E medio y un $1,93 \pm 0,29$ % de lípidos en los pulpos alimentados con la dieta elevada en P/E. Respecto a la composición nutricional de la glándula digestiva, se observó una mayor cantidad de proteína en los pulpos alimentados con el pienso alto en P/E ($71,93 \pm 8,96$ % de proteína) que en los alimentados con la dieta de P/E media ($66,28 \pm 3,41$ % de proteína) (101). De igual manera, en otro trabajo (97) se probaron cuatro dietas diferentes con gelatina como aglutinante, dos de ellas contenían 150 g/kg de gelatina y merluza liofilizada (GEL15-Hake) o pota liofilizada (GEL15-Squid), y las otras presentaban 100 g/kg de gelatina y pota liofilizada (GEL10-Squid) o pescados de pequeño tamaño liofilizados (poner cuales) (GEL10-Fish) (97). Tras realizar la prueba se observó una mejor TEC en los individuos alimentados con la dieta que presentaba 100 g/kg de gelatina y pota ($1,52 \pm 0,28$ %P/día), mientras que el peor resultado y el que más distaba de los otros era el obtenido con el pienso que contenía merluza ($0,94 \pm 0,07$ %P/día). Además, no había diferencias

en la composición corporal de la carcasa, aunque sí se vio que la glándula digestiva de los pulpos alimentados con 100 g/kg de gelatina y pescado obtuvieron valores menores en humedad y mayores en lípidos (97).

Rodríguez-González et al. (102) probaron una misma dieta conocida usada con anterioridad (100) en dos condiciones diferentes, una de ellas consistía en 2 días de ayuno no consecutivos a la semana (miércoles y sábados) y la otra en 3 (lunes, miércoles y sábados) (102). Al final de la prueba se pudo comprobar que el crecimiento era mejor con los 3 días de ayuno semanales, obteniendo un valor de $0,88 \pm 0,12$ %P/día con respecto al $0,78 \pm 0,19$ %P/día de los 2 días de ayuno. Asimismo, se observó un mejor IC en el caso de los 3 días de ayuno ($1,72 \pm 0,18$) que en el de los dos días de ayuno semanales ($2,15 \pm 0,47$), y que no había diferencias en la composición nutricional de la carcasa aunque sí se contempló una mayor proporción de lípidos en la glándula digestiva de los individuos sometidos a 3 días de ayuno ($53,14 \pm 6,91$) que en los pulpos sujetos a dos días de ayuno ($44,28 \pm 13,77$) (102). Por último, en otro trabajo se realizaron dos experimentos, en uno de ellos probaron dos dietas distintas en pulpos separados individualmente, y en el otro probaron una de esas mismas dietas en pulpos en grupo (103). En el primer experimento, las dietas que se probaron eran a base de agua, gelatina, pota, alacha, sargo, boga, cangrejo, huevina, gluten de trigo, almidón, glucosa, arginina, glutamato y distintas gomas, además una de esas dietas contenía lecitina de soja. En el segundo experimento se probó la dieta con lecitina en pulpos separados por grupos de 10 individuos. Tras realizar ambos experimentos se obtuvo una mejor Tasa Específica de Crecimiento en los pulpos alimentados individualmente con el pienso que presentaba lecitina de soja ($1,30 \pm 0,30$ %P/día), sin embargo, se obtuvo un mejor IC en los pulpos que se encontraban en grupo con un valor de $1,8 \pm 0,4$ en comparación con los $2,3 \pm 1,0$ y $2,0 \pm 1,0$ de los pulpos alimentados individualmente sin lecitina de soja y con ella, respectivamente (103). Finalmente se observó un mayor valor lipídico en la carcasa de los individuos alimentados individualmente con el pienso que sí contenía lecitina de soja, mientras que en la glándula digestiva no se apreciaron a penas diferencias (103).

Finalmente cabe destacar que los ingredientes usados en la fabricación de estos piensos son materias primas limitadas en cuanto a su producción y otras de ellas además están destinadas al consumo humano como es el caso de la boga, alacha, cangrejo, gamba, camarón, etc. Por lo que para poder fabricar un pienso económica y ecológicamente rentable debería haber siempre disponibilidad de estas materias primas y estas deben tener un precio moderado, por lo que han de elegirse materias de abundante producción y que no estén destinadas al consumo humano, ya que esto podría incrementar rápidamente su coste.

Es por ello que el tipo de dieta que resultaría más viable a la hora de industrializar el proceso del pienso para pulpos sería la obtención de un pienso seco que los pulpos acepten y con el que crezcan de manera similar a los crecimientos obtenidos con las dietas naturales, de este modo sería más fácil y económico de producir y almacenar. Estos piensos tienen un contenido

muy bajo en agua, de entre el 10 y el 20%, lo que evita la mayoría de problemas y riesgos que sufrirían las dietas naturales, húmedas y semi-húmedas. Sin embargo, no hay que olvidar que las características físicas deben ser idóneas para el manejo del alimento por parte del pulpo.

Estefanell et al. (95) realizaron una prueba donde probaron un pienso seco a base de harina de pescado (*Boop boops*), harina de cangrejo (*Grapsus grapsus*), y alginato y calcio como aglutinantes. Al final de la prueba se vio que su TEC era muy baja, llegando a dar incluso un valor negativo ($-0,11 \pm 0,13$ %P/día). Por otro lado, la composición corporal obtenida tiene similares valores a los obtenidos con distintas dietas naturales (51,84,93), llegando incluso a superar la cantidad de proteína.

Querol et al. (104) probaron dos dietas donde una de ellas contenía un 75% de huevina y un 25% de maltodextrina, y la otra contenía un 30% de huevina, un 30% de maltodextrina y un 40% de gelatina. En este ensayo se pudo comprobar que tenían mejor TEC e IC los pulpos alimentados con la dieta formulada también con gelatina, con un resultado de $0,57 \pm 0,05$ %P/día y $1,22 \pm 0,31$, respectivamente, frente a un $0,35 \pm 0,04$ %P/día y un $2,15 \pm 0,25$, respectivamente de los alimentados con la dieta formulada únicamente con huevina y maltodextrina. De igual manera, se realizó otro ensayo con tres dietas extruídas donde se utilizó huevina como atrayente, y gelatina y maltodextrina como aglutinantes (105). El estudio consistía en una monodieta de harina de pescado, otra monodieta de harina de krill y una dieta mixta de harina de pescado y krill (105). Al final de la prueba se pudo comprobar un menor crecimiento en los pulpos alimentados con la monodieta de harina de pescado obteniendo una TEC de $0,52 \pm 0,14$ %P/día, con respecto a los alimentados con harina de krill ($0,67 \pm 0,18$ %P/día) o los alimentados con la dieta mixta ($0,66 \pm 0,12$ %P/día). Además, los individuos alimentados con harina de pescado obtuvieron peores resultados de IC, con un $1,38 \pm 0,33$; mientras que los alimentados con harina de krill obtuvieron un valor de $0,95 \pm 0,42$ (105).

Querol et al. (73) hicieron un ensayo donde probaron dos dietas con gelatina y maltodextrina como aglutinantes, huevina como atrayente, harina de pescado y de krill, y suplemento de taurina. Una de las dietas presentaba harina de pescado y de krill a partes iguales, mientras que la otra presentaba el triple de harina de pescado que de harina de krill. En ambas dietas se obtuvo una TEC baja en comparación con las dietas naturales, pero si se comparan entre ellas, dio un mejor resultado la dieta con el triple de harina de pescado que de harina de krill, llegando a un valor de $0,63 \pm 0,21$ %P/día, que la dieta con la misma proporción de ambas materias primas ($0,37 \pm 0,13$ %P/día) (73). En lo que respecta a la composición corporal, no se encontraron grandes diferencias en la carcasa, sin embargo, en la glándula digestiva sí se pudo observar que, en el caso de los lípidos y las cenizas, los valores fueron inferiores, con valores de $8,91 \pm 3,09$ % y $2,90 \pm 0,24$ %, respectivamente en los pulpos alimentados con el pienso con mayor proporción de harina de pescado que en los alimentados con el pienso en iguales proporciones, dando en estos últimos valores de $14,02 \pm 4,37$ % de lípidos y $3,57 \pm 0,10$ % de

cenizas (73).

Por último, Querol et al. (106) se probaron dos dietas siguiendo la línea del ensayo anterior donde probaron gelatina y maltodextrina como aglutinantes, huevina como atrayente, harina de pescado y de calamar, y suplemento de taurina. Una de las dietas presentaba harina de pescado y de calamar a partes iguales, mientras que la otra presentaba el triple de harina de pescado que de harina de calamar (106). Al final de la prueba se vio que en ambas dietas se obtuvo una TEC de 0,69 %P/día, aunque donde sí se observó una diferencia mayor fue la cantidad de lípidos que presentaban los individuos en su composición corporal: los pulpos alimentados con el pienso con mayor proporción de harina de pescado presentaban un $8,06 \pm 1,99$ %, mientras que los alimentados con el pienso en iguales proporciones tenían un $5,55 \pm 3,42$ % de lípidos (106).

Con todo lo estudiado hasta la fecha podemos afirmar que mientras que la harina de pescado es la principal fuente de proteína por excelencia en acuicultura, para la alimentación de los pulpos en cautividad, la harina de calamar ha destacado por su perfil de aminoácidos rico en arginina, el cual es uno de los aminoácidos esenciales para los cefalópodos. Asimismo, la utilización de huevina ha demostrado ser un fantástico atrayente para los pulpos ya que ha habido muy buena aceptación por su parte cuando estaba presente en el pienso formulado.

Cabe decir que, pese a los progresos alcanzados hasta la fecha, debe seguir investigándose acerca de una adecuada formulación de los piensos extruidos para pulpos para así poder llegar a obtener ingestas y crecimientos similares a los obtenidos con las dietas naturales.

2) Justificación y objetivos

El pulpo común, como los cefalópodos en general, tiene una gran importancia como recurso marino apto para el consumo humano debido a su alto valor nutritivo, ya que es una fuente importante de proteínas, minerales, vitaminas y de ácidos grasos poliinsaturados Omega-3. Además, como se ha mencionado anteriormente, tiene un gran valor de mercado y su pesca se encuentra en declive debido a la sobreexplotación de las poblaciones. Sus altas tasas de conversión del alimento y de crecimiento, su buena y rápida adaptación a vivir en cautividad y su alta fecundidad, lo convierten en una opción interesante para introducirlo como especie acuícola. Sin embargo, la alimentación de las paralarvas y la falta de piensos artificiales equilibrados y adecuados dificulta el avance y la producción de esta especie a nivel industrial.

Hasta ahora se ha realizado la producción acuícola del pulpo a partir de subadultos capturados del medio, engordándolos hasta su peso comercial con alimento natural, pescado y crustáceos de bajo valor comercial, pero no es posible realizarlo a nivel industrial debido a las limitaciones que conlleva. Asimismo, con la alta mortalidad larvaria y sin una dieta artificial eficiente y económica durante todas las etapas de su vida, resulta imposible la producción de juveniles y adultos en cautividad.

A día de hoy, los piensos que han ofrecido mejores resultados de crecimiento y aprovechamiento nutritivo para el engorde de pulpo incorporan en su formulación ingredientes liofilizados (68,98). No obstante, aunque el proceso de liofilización permite conservar intactas las propiedades nutritivas de los ingredientes, se trata de un proceso caro que implica también un precio final elevado en la fabricación del pienso. En este sentido, la sustitución de los liofilizados de origen animal por concentrados de proteína de origen vegetal, más baratos y con mayor disponibilidad en el mercado, puede ser una opción interesante para disminuir los costes de producción. En todo caso, se deben descartar aquellas materias primas deshidratadas por calor (99) y dar preferencia a aquellas obtenidas por fraccionamiento de los granos por vía húmeda y centrifugación, digestión o secado por atomización (spray-dried). Igualmente, se deben descartar aquellas materias primas procedentes de semillas oleaginosas con un elevado contenido lipídico (107).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar la aceptabilidad, crecimiento y composición nutritiva del pulpo alimentado con cuatro piensos: uno control formulado con materias primas proteicas de origen marino, dos de ellos en los que dichas materias primas son sustituidas por concentrados de proteína de origen vegetal (concentrado de soja y concentrado de guisante) y el otro con una fuente proteica animal de bajo coste y una gran disponibilidad de mercado (harina de sangre, subproducto de la industria cárnica).

3) Material y métodos

3.1) Captura y aclimatación de los animales

Los ejemplares de pulpo (*Octopus vulgaris*) fueron capturados del medio natural en colaboración con pescadores profesionales mediante el uso de nasas, cadufos o pesca de arrastre en el Mar Mediterráneo, frente a San Pedro del Pinatar (Murcia), y comprados a la lonja de Torrevieja. Posteriormente fueron transportados hasta las instalaciones del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (IMIDA). A su llegada, los pulpos se mantuvieron en tanques circulares de 2000 litros de capacidad ([Figura 3](#)), en recirculación y con control de la temperatura gracias a una bomba de calor a $18,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, dentro del rango óptimo para esta especie (28). El oxígeno disuelto estaba por encima del 80% de saturación (108), y presentaba un fotoperiodo controlado con un reloj dando unas condiciones de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Por otro lado, el parámetro de salinidad fue de 37‰, el pH estuvo entre 7 y 8, la concentración de nitrógeno amoniacal y nitritos inferior a 0,2 mg/l, y la de nitratos a 50 mg/l. El periodo de aclimatación tuvo una duración de 2-3 semanas, tiempo en el cual se comprobó que los individuos aceptaban e ingerían de forma regular las dietas naturales comúnmente empleadas (cangrejo y boga).

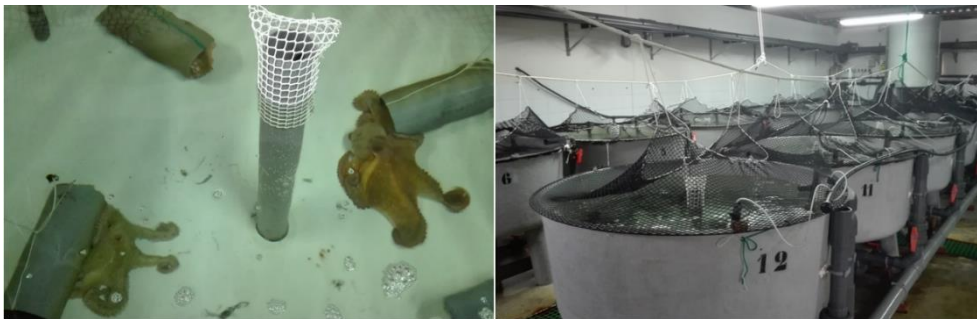


Figura 3. Tanques circulares de 2m³ con tubos de PVC utilizados durante el periodo de aclimatación

3.2) Elaboración de los piensos formulados

Para el estudio se formularon 4 piensos (pienso control, pienso con proteína de soja, pienso con proteína de guisante y pienso con harina de sangre) a partir de la base desarrollada en trabajos previos y que han dado buenos resultados (68,98), pero incluyendo mezclas de aglomerantes nuevos que han permitido mejorar su textura y estabilidad en agua, así como su composición nutritiva ([Tabla 2](#)). Se prepararon usando exclusivamente ingredientes secos en polvo (harinas, deshidratados, liofilizados o atomizados), y se añadió el porcentaje de agua mínimo para permitir su aglomeración. En este ensayo se procedió a preparar un pienso control a base de pescado y pota, dos nuevos piensos empleando como base la formulación del pienso anterior sustituyendo un 15% de pescado y pota por materias primas vegetales a probar: concentrado de proteína de soja y de proteína de guisante, y un cuarto pienso donde se sustituyó un 15% de pescado y pota por harina de sangre. Inicialmente todos los ingredientes se mezclaron en seco, y posteriormente se añadió el agua para proceder al amasado y envasado al vacío. La

mezcla resultante se calentó en agua a 45°C durante una hora y posteriormente se dejó enfriar a 4°C durante 24 horas. Por último, el pienso se cortó en piezas cúbicas de 3 x 3 cm antes de suministrarlo a los animales.

Tabla 2. Composición (%) de los piensos experimentales formulados

	Control	Soja	Guisante	Sangre
Agua	40	40	40	40
Gelatina¹	10	10	10	10
Pota²	10	5	5	5
Alacha²	5	0	0	0
Morralla²	5	5	5	5
Merluza²	5	0	0	0
H. Guisante¹	0	0	15	0
H. Soja¹	0	15	0	0
H. Sangre¹	0	0	0	15
Huevina³	5	5	5	5
Cangrejo²	2	2	2	2
Glucosa⁴	2	2	2	2
Arginina⁵	0,5	0,5	0,5	0,5
Glutamato⁵	0,5	0,5	0,5	0,5
Almidón⁶	10	10	10	10
Goma PRS-T¹	2,5	2,5	2,5	2,5
Goma PRS-30KT¹	2,5	2,5	2,5	2,5

¹Productos Sur, S.A. (Pol. Ind. Oeste, San Ginés, Murcia, Spain)

²Ingredientes liofilizados. Pesquerías artesanales

³Avícola San Isidro S.L. (Los Belones, Cartagena, Murcia, Spain)

⁴Guinama S.L.U. (Alboraya, Valencia, Spain)

⁵PANREAC (Barcelona, Spain)

⁶Salvador Pinar Jiménez S.L. (Molina de segura, Murcia, Spain)

3.3) Diseño experimental

Finalizado el periodo de aclimatación, un total de 55 pulpos se pesaron, sexaron y distribuyeron en 11 grupos experimentales de 5 animales en los tanques donde se iba a llevar a cabo el engorde con los piensos formulados. Estos eran tanques circulares de 849 litros con tubos de PVC para que pudieran refugiarse, y presentaban una red externa para evitar escapes. Se probaron 4 piensos en animales alojados en grupo de 5 animales y por triplicado, a excepción del pienso control, que fue por duplicado, durante un período de 8 semanas. Se alimentaron a saciedad 4 días a la semana (martes, jueves, viernes y domingo) con una ración que sobrepasase a sus necesidades. El alimento fue suministrado a primera hora de la mañana (9:00), y se recogía el alimento sobrante a primera hora del día siguiente. El sobrante se introdujo en la estufa a 105°C durante 48 horas para eliminar toda la humedad y posteriormente se pesó para calcular la ingesta diaria en peso seco. El rango de temperatura del agua fue de entre 16 y 20°C (media de 18,1°C), los caudales de agua se ajustaron para que los niveles de oxígeno se mantuvieran por encima del

80% de saturación (media de 82,4% de saturación), la concentración de nitrógeno amoniacal y nitritos fue inferior a 0,2 mg/l, y la de nitratos inferior a 50 mg/l. La temperatura y el oxígeno disuelto se registraron dos veces al día, mientras que los productos nitrogenados y el pH se registraron semanalmente. A las 8 semanas, una vez finalizados los experimentos, todos los animales fueron pesados y anestesiados por inmersión en agua de mar helada antes del sacrificio siguiendo los principios éticos de reducción, reemplazamiento y refinamiento, evitando y minimizando así cualquier tipo de sufrimiento, dolor o ansiedad de acuerdo con la Directiva 2010/63/EU.

3.4) Recogida y conservación de las muestras

Posteriormente al sacrificio de los individuos, se separó la glándula digestiva de la carcasa (esto es: el resto del individuo exceptuando la glándula digestiva) y se mantuvieron en congelación (-20°C) como muestras distintas hasta el momento del análisis. Así, cada glándula se pesó con el fin de calcular el índice de la glándula digestiva (IGD). Posteriormente, cada una de estas partes se trituró y mezcló hasta obtener una mezcla homogénea, y se volvieron a congelar a -20°C hasta un tiempo antes de proceder a los análisis bioquímicos, de forma que pudieran descongelarse y fuera más fácil separar y pesar la cantidad de muestra necesaria. Se conservaron y analizaron 2 pulpos por tanque, es decir, 6 pulpos por tratamiento, excepto en el control, que como solo se disponía de dos tanques, se conservaron y analizaron 3 pulpos por tanque para obtener un total de 6 pulpos.



Figura 4. A la izquierda: glándula digestiva con bolsa de tinta. A la derecha: carcasa de pulpo congelada

3.5) Métodos analíticos

La composición nutricional (proteínas, lípidos, cenizas y humedad) de los piensos, carcasa, glándula digestiva y heces fue analizada al final de la prueba siguiendo la metodología descrita por la AOAC (1997). El contenido de humedad se obtuvo por desecación a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas hasta peso constante (método núm. 930.15), y el de cenizas (minerales) por incineración a $600 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 16 horas en horno mufla. El contenido de proteína se obtuvo por el método de Kjeldhal usando el factor de conversión con valor de 6,25, mientras que el contenido total de lípidos se obtuvo por extracción con dietiléter en una unidad de extracción (Soxtec AVANTI 2058) a 130°C (método núm. 920.39). Asimismo, los carbohidratos fueron calculados por diferencia con el resto de analíticas.

3.6) Determinación de la digestibilidad

Los coeficientes de digestibilidad aparentes se calcularon para la materia seca (CDA_{MS}), la proteína ($CDA_{Proteína}$), los lípidos ($CDA_{Lípidos}$) y la energía ($CDA_{Energía}$) utilizando la ecuación estándar, según Maynard y Loosli (1969):

$$CDA = 100 - (100 * \%M_{Pienso} / \%M_{Heces}) * (\%N_{Heces} / \%N_{Pienso})$$

Donde M es el marcador inerte y N el nutriente. Se utilizó Ceniza Insoluble en Ácido (CIA) como marcador inerte siguiendo el método descrito por Atkinson et al. (1984). Para calcular la digestibilidad se disponía de 2 tanques de control y 3 para cada uno de los ingredientes.

3.7) Parámetros calculados y análisis de datos

Todos los ejemplares fueron pesados al inicio y al final del experimento (8 semanas). Para el análisis nutricional fueron calculados los siguientes parámetros de crecimiento:

- Supervivencia (%): $\frac{N_f}{N_i} * 100$;
- Incremento de peso: $IP (g) = P_f - P_i$;
- Tasa de Alimentación Absoluta: $TAA (g/día) = \frac{PC}{días}$;
- Tasa de Alimentación Relativa: $TAR (\%P/día) = \frac{TAA}{P_m} * 100$;
- Tasa de Crecimiento Absoluto: $TCA (g/día) = \frac{IP}{días}$;
- Tasa Específica de Crecimiento: $TEC (\%P/día) = \frac{\ln P_f - \ln P_i}{días} * 100$
- Índice de Eficiencia del Alimento: $IEA (\%) = \frac{IP}{PC} * 100$;
- Índice de Conversión: $IC = \frac{PC}{IP}$;
- Índice de la Glándula Digestiva: $IGD (\%) = \frac{PDG}{P_f} * 100$;

donde P_f = peso final en gramos; P_i = peso inicial en gramos; PDG = peso de la glándula digestiva; PC = pienso consumido en gramos.

3.8) Análisis estadísticos

Los resultados de los parámetros de crecimiento y alimentación, los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) y la composición nutricional fueron analizados estadísticamente con StatGraphics Plus 5.1 (Copyright 1994-2001, Statistical Graphics Corp.). Para estudiar si existen diferencias entre las variables paramétricas de los tratamientos empleados, se realizó una ANOVA simple, exceptuando los parámetros de peso final, incremento de peso y la Tasa Específica de Crecimiento, donde se realizó una ANOVA multifactorial con el peso inicial como co-variable. Todos ellos con un nivel de significación de $P < 0,05$ y aplicando el test de Newman-Keuls para la comparación de medias individuales.

4) Resultados

Los piensos formulados presentaron una textura firme antes de introducirlos en el agua. Estos mostraron tasas de disgregación bajas (10,16 - 23,45 % después de 24 horas en el agua), dando una mayor estabilidad el pienso formulado con harina de sangre y más baja el pienso que contenía concentrado de proteína de guisante ([Tabla 3](#)).

La composición nutricional de los piensos se puede ver en la [Tabla 3](#), en ella se puede observar que todos los piensos presentaron una humedad similar, considerándose así como dietas semi-húmedas (control de 46,32 %, soja de 44,88 %, guisante 45,69 % y sangre de 45,92 %) y elevado contenido de proteína bruta, siendo el pienso con harina de sangre el que presentaba mayor cantidad de proteína bruta después del pienso control (68,33 y 68,85 % en peso seco, respectivamente). Por otro lado, también se obtuvieron valores similares de contenido lipídico, dando valores superiores al control los piensos elaborados con proteínas vegetales y un valor inferior el pienso formulado con proteína animal. Asimismo, se observó un mayor contenido de carbohidratos en el pienso que contenía harina de guisante con respecto al resto de dietas. En cuanto a la energía, en los piensos formulados se observaron valores similares y ligeramente inferiores al pienso control.

Tabla 3. Composición nutricional (g/100g peso seco) y TD (%) de los piensos experimentales formulados

	Control	Soja	Guisante	Sangre
Humedad (%)	46,31	44,88	45,69	45,92
Proteína (%)	68,85	67,29	64,57	68,33
Grasas (%)	5,88	6,28	6,62	5,70
Cenizas (%)	5,83	5,13	4,85	5,82
CHO¹ (%)	21,38	21,31	23,97	20,15
Energía² (kJ/100g)	2210,79	2188,01	2181,40	2170,85
P/E (g/MJ)	31,15	30,75	29,60	31,48
Tasa de disgregación (% MS. en 24 h)	18,20 ± 1,90	17,56 ± 1,58	23,45 ± 2,84	10,16 ± 0,75

¹ CHO = Carbohidratos, calculados por diferencia.

² La energía se estimó utilizando los coeficientes de energía de Miglavs & Jobling (1989): proteína, 23,6 kJ/g; lípido, 38,9 kJ/g; y carbohidratos, 16,7 kJ/g.

La tasa de supervivencia al finalizar la prueba fue del 100 % con el pienso control y con el pienso con proteína de guisante y del 93,33 % con los otros dos ([Tabla 4](#)). Además, se observó una buena aceptación aparente en los piensos por parte de los pulpos a excepción del pienso elaborado con harina de sangre.

Tras las 2 semanas de experimento se obtuvieron claras diferencias entre las cuatro dietas respecto a la evolución del peso ([Tabla 4](#)), siendo el de la dieta control superior al obtenido con las dietas formuladas con ingredientes vegetales y animales, y estas presentaron incrementos

similares. Los pulpos alimentados con el pienso control presentaron un incremento de 896,91 g, mientras que los alimentados con el pienso con soja mostraron un incremento de peso de 278,94 g, los alimentados con el pienso formulado con guisante, 240,55 g, y los alimentados con el pienso con harina de sangre se observó un incremento de solo 177,24 g.

El grupo alimentado con el pienso elaborado con proteína de soja presentó una ligera mayor ingesta de alimento diario (26,04 g/día/pulpo) que los grupos alimentados con el pienso de guisante, control y de harina de sangre (24,94 g/día/pulpo, 24,22 g/día/pulpo y 11,78 g/día/pulpo, respectivamente), siendo la ingesta de este último menos de la mitad que en el resto de dietas, lo que podría indicar que el uso de la harina de sangre generó un rechazo por parte del pulpo y por consecuencia, una peor aceptación del pienso.

Tabla 4. Índices de crecimiento, eficacia alimentaria y biométricos de pulpos (*Octopus vulgaris*) alimentados con piensos formulados y mantenidos en grupo

	Control	Soja	Guisante	Sangre
N*	2	3	3	3
Supervivencia (%)	100,00 ± 4,71	93,33 ± 4,71	100,00 ± 4,71	93,33 ± 4,71
P_i (g)	905,50 ± 15,62	856,33 ± 12,76	864,33 ± 12,76	886,33 ± 12,76
P_f (g)	1772,54 ± 63,53 ^a	1154,57 ± 48,43 ^b	1116,19 ± 44,34 ^b	1052,88 ± 44,10 ^b
IP (g)	896,91 ± 63,53 ^a	278,94 ± 48,43 ^b	240,55 ± 44,38 ^b	177,24 ± 44,10 ^b
TAA (g/día/pulpo)	24,22 ± 2,70 ^a	26,04 ± 2,20 ^a	24,94 ± 2,20 ^a	11,78 ± 2,20 ^b
TAR (%P/día)	1,78 ± 0,24 ^{ab}	2,63 ± 0,20 ^a	2,54 ± 0,20 ^a	1,20 ± 0,20 ^b
TCA (g/día)	16,02 ± 1,14 ^a	4,98 ± 0,87 ^b	4,29 ± 0,79 ^b	3,17 ± 0,79 ^b
TEC (%P/día)	1,22 ± 0,10 ^a	0,50 ± 0,08 ^b	0,44 ± 0,07 ^b	0,32 ± 0,07 ^b
IEA (%)	67,80 ± 6,40 ^a	19,22 ± 5,23 ^b	16,60 ± 5,23 ^b	27,62 ± 5,23 ^b
IC	1,48 ± 1,51	5,64 ± 1,23	6,20 ± 1,23	4,75 ± 1,23
IGD (%)	4,82 ± 0,55 ^a	3,47 ± 0,55 ^{ab}	4,52 ± 0,55 ^a	2,88 ± 0,55 ^b

*N = Número de grupos. Cada grupo compuesto de 5 ejemplares

P_i, Peso inicial; P_f, Peso final; IP, Incremento de Peso; TAA, Tasa de Alimentación Absoluta; TAR, Tasa de Alimentación Relativa; TCA, Tasa de Crecimiento Absoluto; TEC, Tasa Específica de Crecimiento; IEA, Índice de Eficiencia Alimentaria; IC, Índice de Conversión; IGD, Índice de la Glándula Digestiva.

La Tasa de Crecimiento Absoluto (TCA) con la dieta control fue mucho mayor (16,02 g/día), que con las dietas elaboradas (Tabla 4), llegando a obtener con estas unos valores 4 veces inferiores a los obtenidos con el pienso control. De igual forma, los valores de la Tasa Específica de Crecimiento reflejan la diferencia de crecimiento entre el pienso control y las dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas (Tabla 4), siendo la TEC del pienso control mucho más alta (1,22 %P/día) que la de los piensos elaborados con concentrado de proteína de soja, guisante y con harina de sangre (0,50 %P/día, 0,44 %P/día y 0,32 %P/día, respectivamente).

En cuanto al Índice de Conversión (IC), se puede observar un mejor resultado en el pienso control, seguido del pienso elaborado con harina de sangre, aunque estas diferencias no fueron significativas ([Tabla 4](#)).

Respecto al Índice de la Glándula Digestiva, cabe decir que los valores fueron mayores en el control (4,84 %) que en el pienso con harina de sangre (2,88 %) ([Tabla 4](#)).

Para conocer la digestibilidad de las dietas se analizó la composición de las heces, como puede verse en la [Tabla 5](#). En ella se puede observar una mayor cantidad de proteína en las heces producidas por los pulpos alimentados con las diferentes dietas que sustituían los ingredientes marinos, y valores similares de contenido en cenizas de entre un 16,29 y un 20,50 %. Asimismo, se observó un contenido lipídico bajo de alrededor de un 2 y un 5 %, siendo mayor el contenido lipídico en las heces producidas por los individuos alimentados con proteína de guisante; y un elevado contenido de carbohidratos, sobre todo en las heces de los pulpos alimentados con el pienso control. Por último, no se observaron grandes diferencias en cuanto a la energía en las heces de ninguno de los individuos alimentados con los diferentes piensos elaborados.

En el Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) de la materia seca no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los periodos ([Tabla 5](#)). Por otro lado, en el CDA de la proteína se observaron valores de digestibilidad más elevados en los pulpos alimentados con el pienso control. En el CDA de los lípidos no se encontraron diferencias, aunque se pudo ver que la digestibilidad del pienso de guisante en el segundo mes ($66,56 \pm 3,64$) fue inferior al resto. Por último, en cuanto al Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la energía no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los dos periodos en función de la dieta ingerida.

Tabla 5. Composición nutricional (g/100g peso seco) de las heces y coeficientes de digestibilidad aparente (CDA, %) de los piensos formulados

	Mes 1				Mes 2			
	Control	Soja	Guisante	Sangre	Control	Soja	Guisante	Sangre
Humedad (%)	1,35	1,32	1,99	1,99	2,52	2,18	4,06	5,27
Proteína (%)	18,74	33,24	30,73	30,47	15,97	34,46	29,34	27,64
Grasas (%)	4,38	3,20	5,57	2,81	2,99	2,54	5,79	2,68
Cenizas (%)	16,29	18,07	18,85	18,57	18,50	18,22	18,94	20,50
CHO¹ (%)	60,59	45,48	44,85	48,16	62,55	43,78	45,93	49,19
Energía² (kJ/100 g)	1624,36	1668,75	1690,80	1632,48	1537,57	1643,20	1684,60	1577,79
CDA_{MS}	68,80 ± 3,85	70,73 ± 2,23	70,23 ± 2,23	70,62 ± 2,23	61,25 ± 6,23	59,89 ± 5,27	62,81 ± 5,69	45,37 ± 6,23
CDA_{Proteína}	91,20 ± 1,44 ^a	86,54 ± 0,91 ^b	85,63 ± 0,83 ^b	86,96 ± 0,83 ^b	90,32 ± 3,39 ^a	78,31 ± 2,77 ^b	82,73 ± 2,77 ^{ab}	78,10 ± 3,03 ^b
CDA_{Lípidos}	75,95 ± 2,49 ^b	85,00 ± 1,44 ^a	74,57 ± 1,44 ^b	85,57 ± 1,44 ^a	78,49 ± 4,46 ^{ab}	82,89 ± 3,64 ^a	66,56 ± 3,64 ^b	74,01 ± 3,99 ^{ab}
CDA_{Energía}	77,07 ± 2,46	79,46 ± 1,55	76,92 ± 1,42	77,90 ± 1,42	71,54 ± 5,38	68,78 ± 4,39	71,19 ± 4,39	60,12 ± 4,81

¹ CHO = Carbohidratos, calculados por diferencia.

² La energía se estimó utilizando los coeficientes de energía de Miglavs & Jobling (1989): proteína, 23,6 kJ/g; lípido, 38,9 kJ/g; y carbohidratos, 16,7 kJ/g.

El análisis proximal de la composición nutricional en la carcasa y la glándula digestiva se muestra en las [Tablas 6](#) y [7](#). Se observaron diferencias de humedad en la glándula digestiva de los distintos individuos, siendo inferior en la glándula digestiva de los pulpos alimentados con la dieta control. De igual forma, el contenido proteico fue menor en estas glándulas digestivas (57,21 %) que en los pulpos alimentados con las dietas con ingredientes vegetales y animales, los cuales presentaban valores de aproximadamente el 64 - 67 %. En cuanto al contenido lipídico ([Tabla 6](#)), las glándulas digestivas de los pulpos alimentados con el pienso control o con el pienso con harina de sangre presentaron una mayor proporción de lípidos (10,69 y 13,21 %, respectivamente), lo cual está directamente relacionado con el nivel energético.

El contenido de carbohidratos fue inferior en la glándula digestiva de los pulpos alimentados con harina de sangre que en el resto de los individuos.

Tabla 6. Composición nutricional (g/100g peso seco) de la glándula digestiva

	Control	Soja	Guisante	Sangre
Humedad (%)	65,09 ± 1,00 ^b	71,37 ± 1,00 ^a	68,39 ± 1,00 ^a	71,36 ± 1,00 ^a
Proteína (%)	57,21 ± 1,37 ^b	66,82 ± 1,37 ^a	64,23 ± 1,37 ^a	67,13 ± 1,37 ^a
Grasas (%)	10,69 ± 1,29 ^{ab}	5,68 ± 1,29 ^c	7,88 ± 1,29 ^{bc}	13,21 ± 1,29 ^a
Cenizas (%)	3,85 ± 0,33	4,91 ± 0,33	4,51 ± 0,33	5,87 ± 0,33
CHO¹ (%)	28,25 ± 1,80 ^a	22,59 ± 1,80 ^a	23,38 ± 1,80 ^a	13,85 ± 1,80 ^b
Energía² (kJ/100g)	2237,70 ± 27,62 ^b	2175,13 ± 27,62 ^b	2212,74 ± 27,62 ^b	2329,56 ± 27,62 ^a

¹ CHO = Carbohidratos, calculados por diferencia.

² La energía se estimó utilizando los coeficientes de energía de Miglavs & Jobling (1989): proteína, 23,6 kJ/g; lípido, 38,9 kJ/g; y carbohidratos, 16,7 kJ/g.

La composición nutricional de la carcasa puede verse en la [Tabla 7](#). De igual forma que en la glándula digestiva, los pulpos alimentados con el pienso control tenían un menor contenido en humedad y proteína que el resto. El contenido lipídico fue muy bajo, dando un valor inferior en el pienso control de un 0,95 % y un valor máximo de un 1,64 % en el pienso elaborado con harina de sangre. Con respecto a las cenizas y los carbohidratos, siguieron un patrón diferente, siendo las cenizas significativamente mayores en los piensos con materias primas vegetales y animales, y los carbohidratos mayores en el pienso control. El contenido energético fue similar en las carcasas de los pulpos alimentados con todos los tratamientos.

Tabla 7. Composición nutricional (g/100g peso seco) de la carcasa

	Control	Soja	Guisante	Sangre
Humedad (%)	81,53 ± 0,49 ^b	82,97 ± 0,49 ^{ab}	82,86 ± 0,49 ^{ab}	83,99 ± 0,49 ^a
Proteína (%)	73,93 ± 1,35 ^b	76,21 ± 1,35 ^{ab}	76,58 ± 1,35 ^a	79,09 ± 1,35 ^{ab}
Grasas (%)	0,95 ± 0,12 ^b	1,05 ± 0,12 ^b	1,10 ± 0,12 ^b	1,64 ± 0,12 ^a
Cenizas (%)	10,71 ± 0,46 ^b	12,05 ± 0,46 ^a	12,94 ± 0,46 ^a	12,81 ± 0,46 ^a
CHO¹ (%)	14,41 ± 1,46 ^a	10,36 ± 1,46 ^{ab}	6,98 ± 1,46 ^b	9,35 ± 1,46 ^b
Energía² (kJ/100g)	2022,40 ± 10,46	2021,08 ± 10,46	2025,86 ± 10,46	2018,25 ± 10,46

¹ CHO = Carbohidratos, calculados por diferencia.

² La energía se estimó utilizando los coeficientes de energía de Miglavs & Jobling (1989): proteína, 23,6 kJ/g; lípido, 38,9 kJ/g; y carbohidratos, 16,7 kJ/g.

5) Discusión

Los piensos utilizados en el presente trabajo mostraron tasas de disgregación bajas (10,16 - 23,45 % después de 24 horas en el agua) y muy similares a trabajos anteriores como es el caso del 11,40 - 18,10 % de los piensos fabricados con guisante y pota (98), el 13,60 - 15,00 % de los piensos formulados por Cerezo Valverde y García García (2017) con 150 gramos de gelatina y merluza o pota (97) y el 12 - 25 % de disgregación del pienso formulado por Rodríguez-González (2018) sin o con lecitina de soja (103).

Los niveles de humedad obtenidos en las dietas de este estudio son similares a los obtenidos en estudios previos donde eran probadas distintas dietas semi-húmedas. Las dietas formuladas presentaron niveles altos de proteína y fueron similares a los obtenidos en estudios anteriores. También presentaron niveles de lípidos relativamente bajos de alrededor del 5 y el 6 %, siendo estos más bajos que en la mayoría de estudios previos con dietas semi-húmedas (68,71,78,98-100,102). En cuanto a los carbohidratos, cabe decir que los obtenidos en el presente estudio fueron inferiores, llegando a ser la mitad o un tercio, a los obtenidos en estudios previos con el mismo tipo de dietas (68,78). Por último, en lo referente a la energía obtenida en la composición nutricional del pienso, fue muy similar a la obtenida previamente con otros experimentos.

La tasa de supervivencia al finalizar la prueba fue del 100 % en el pienso control y en el pienso con proteína de guisante, y del 93,33 % en los otros dos; es decir, muy similar a las obtenidas en estudios anteriores con dietas semi-húmedas, rondando valores de entre un 87,50 y un 100 % de la supervivencia al finalizar las distintas pruebas (10,68,97,98,100-102), y sin diferencias significativas entre tratamientos. Esto se debe a que son animales de gran tamaño y a que el tiempo de experimentación es corto, por lo que normalmente las bajas supervivencias con esta especie se deben a escapes.

Respecto al crecimiento, los incrementos de peso obtenidos en todas las dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas presentaban valores bajos en comparación con la dieta control, formulada principalmente con fuentes marinas. Si comparamos con otras pruebas de crecimiento en esta especie y con piensos semi-húmedos, como el estudio que realizaron Morillo-Velarde et al. en 2015 (68), donde se probaron dos dietas que contenían gelatina, huevina, pota y alacha, una de ellas además incluía glucosa y la otra almidón. Estas obtuvieron una TEC de $0,86 \pm 0,07$ %P/día y $1,03 \pm 0,08$ %P/día, respectivamente. Estos valores fueron superiores a los obtenidos en los piensos con concentrados vegetales y harina de sangre, y ligeramente inferiores a los del pienso control del presente estudio, hecho que está justificado por el elevado contenido proteico de origen marino, ya que se asemeja más a su dieta natural, y con el que se cubren las necesidades nutritivas del pulpo. Crecimientos similares obtuvieron Morillo-Velarde et al. (10) en otro estudio donde probaron tres dietas que contenían gelatina, huevina, pota y alacha,

con diferentes concentraciones de aceite de bacalao, obteniendo unas TEC de $0,91 \pm 0,11$ %P/día, $0,72 \pm 0,12$ %P/día y $0,66 \pm 0,09$ %P/día, siendo el primero el que no contenía aceite, el segundo contenía 100 g/kg y el último 200 g/kg (10). Asimismo, Rodríguez-González et al. (100) probaron dos piensos que contenían como ingredientes proteicos huevina, boga, pota y cangrejo. En una de ellas la boga era liofilizada y en la otra se usó harina de boga. Con estas dietas se obtuvo unas TEC de $0,78 \pm 0,19$ %P/día y $0,85 \pm 0,09$ %P/día, respectivamente (100). En la mayoría de los casos los resultados fueron similares, y el crecimiento superior a los de las dietas con ingredientes vegetales y harina de sangre, e inferior a los del pienso control usado en la presente prueba. Sin embargo, los valores obtenidos por García et al. en 2011 (52) con dos dietas semi-húmedas formuladas con calamar, proteína de pescado, harina de pescado y gelatina o alginato fueron muy inferiores ($0,21 \pm 0,28$ %P/día y $-0,24 \pm 0,29$ %P/día, respectivamente) a los obtenidos en el presente estudio, llegando a dar incluso un valor negativo, lo que podría deberse a las malas condiciones y características nutricionales en las que se encontraban estos pulpos, puesto que los ingredientes utilizados contenían todos proteína de calidad. No obstante, crecimientos bastante superiores obtuvieron Cerezo Valverde y García García en 2017 (97) con dietas semi-húmedas con diferentes concentraciones de gelatina y diferentes ingredientes como merluza, pota o pequeños peces. En ellos se llegó a obtener un crecimiento de 1,52 y 1,48 %P/día con 100 gramos de gelatina y pota o pequeños peces, respectivamente (97), justificando de nuevo los buenos crecimientos con la calidad proteica de las dietas debido a sus ingredientes.

Por otro lado, si se compara el incremento de peso obtenido en el presente trabajo con el obtenido en otros trabajos como el de Morillo-Velarde et al. en 2012 (98), donde se realizó también una prueba con guisante, se puede observar un incremento menor (91,00 g) que el obtenido en el presente estudio, siendo el resultado de este último casi el triple (240,55 g). Esto se debe a que en este caso se utilizó un concentrado de proteína de guisante, mientras que en el estudio de Morillo-Velarde se empleó guisante liofilizado, por lo que el nivel proteico de la dieta es superior.

La soja también ha sido probada con anterioridad en dietas semi-húmedas, como Morillo-Velarde et al. en 2015 (99) que, al igual que ha ocurrido con el guisante, obtuvieron un mejor crecimiento que en este estudio (4,98 g/día). De hecho, en este caso el crecimiento fue mucho mayor, ya que en dicha prueba se obtuvo un valor de TCA negativo (-6,96 g/día).

Si comparamos las Tasas Específicas de Crecimiento con pruebas con dietas extruídas, como en el estudio de Estefanell et al. (95), y con dietas húmedas, como las obtenidas en 2008 por Cerezo Valverde et al. (51) o por Cerezo Valverde et al. en 2013 (96), vemos que los resultados del presente estudio son similares o incluso superiores.

En general, podemos decir que el crecimiento de los pulpos alimentados con la dieta control fue similar o ligeramente superior a aquellos obtenidos hasta el momento con dietas húmedas con ingredientes marinos, debido a la calidad de los ingredientes, que cubre las

necesidades nutritivas de la especie. De igual forma, el crecimiento de los pulpos que fueron alimentados con las dietas vegetales es superior al de pruebas anteriores con estos mismos ingredientes, pero con distinto procesado, ya que contenían un mayor nivel proteico. Y por último, las diferencias de crecimiento en función de la fuente proteica del presente trabajo, podrían ser consecuencia de dos hechos: que los piensos no cubran las necesidades en aminoácidos esenciales del pulpo en el caso de las materias primas vegetales, o que no tengan buena aceptabilidad por parte del animal, por lo que no ingiere suficiente cantidad de alimento y el crecimiento se ve desfavorecido, como ocurre en el caso de la harina de sangre.

Los resultados obtenidos respecto a los parámetros nutritivos indican falta de palatabilidad en la dieta con harina de sangre. Esto se observa en la Tasa de Alimentación Absoluta (TAA), que fue inferior en los pulpos alimentados con esta dieta, lo que se debe a que los pulpos tienen una gran cantidad de quimiorreceptores en sus brazos que les permiten diferenciar sabores de una manera muy precisa, lo que puede suponer un gran problema para la producción de esta especie, ya que puede limitar los ingredientes a utilizar en sus dietas.

Sin embargo, en general, las tasas de alimentación del pienso control y los piensos elaborados con concentrados de proteínas vegetales fueron mayores a las obtenidas en trabajos previos con mayores niveles de proteína marina (10,68,71,98-103), exceptuando los resultados obtenidos por Cerezo Valverde y García García en 2017 (97), donde se probaron 4 dietas con distintas cantidades de gelatina y distintas materias primas, obteniendo TAA muy similares, estando estos últimos en un rango de entre 22,69 y 26,21 g/día. También cabe destacar la diferencia entre la TAA del pienso elaborado con soja en el presente estudio (26,04 g/día) y la obtenida por Morillo-Velarde et al. en 2015 (99) con un pienso también elaborado con soja (3,35 g/día). Esto podría deberse a que el pienso utilizado en el presente estudio contenía concentrado de proteína de soja y el pienso elaborado por Morillo-Velarde contenía la semilla entera de la soja, que podría haber modificado la palatabilidad de las dietas.

El Índice de la Glándula Digestiva (IGD) alcanzado con el pienso con guisante, superior significativamente al resto de los piensos en los que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas, es similar a los alcanzados en otros ensayos con dietas semi-húmedas (10,68,97,98,100-103) pero superior al IGD obtenido con el pienso con guisante (4,20 %) formulado por Morillo-Velarde et al. en 2012 (98). Para el pienso con harina de sangre el IGD fue muy bajo (2,88 %), que podría deberse a que estos pulpos se encontraban en un estado nutricional inadecuado, ya que la glándula digestiva es considerada como un buen indicador (61). Esto podría deberse a que, con la baja ingesta de pienso, se hayan desplazado las reservas desde la glándula digestiva.

Con los tres piensos en los que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas se obtuvo una digestibilidad de la materia seca del orden del 70 % en el primer mes (68,08 - 70,73 %) e inferior en el segundo (45,37 - 62,81 %). Cuando se comparan los resultados de digestibilidad obtenidos en el presente trabajo con estudios previos cuyas materias primas son similares, como

es el caso del pienso con guisante de Morillo-Velarde (98), se observa que sus valores son ligeramente superiores (73,8 %).

La digestibilidad de la proteína ($CDA_{Proteína}$) en el presente estudio fue mayor en el pienso control seguido del pienso que contenía harina de sangre y concentrado de proteína de soja. Sin embargo, si se compara cada uno de ellos con estudios previos se puede observar que la gran mayoría obtienen un $CDA_{Proteína}$ mayor que en el presente trabajo (10,68,98,100,102,103), llegando a alcanzar un máximo de 98,13 % con el pienso semi-húmedo con harina de boga formulado por Rodríguez-González en 2015 (100). Esto podría deberse a que las fuentes proteicas de este último son en gran parte de origen marino, es decir, más similares a su dieta en el medio natural; y también a la menor proporción de almidón. En 2012 Morillo-Velarde et al. (98) probaron una dieta con pota, alacha y huevina como fuentes proteicas, obteniendo un $CDA_{Proteína}$ del 97,0 %, lo que podría deberse a que esta dieta no presentaba carbohidratos.

Por otro lado, los tres piensos en los que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas tienen una digestibilidad de los lípidos ($CDA_{Lípidos}$) alta en el primer mes (74,57 - 85,57 %) y un poco inferior en el segundo (66,56 - 82,89 %). Cuando se comparan con trabajos previos en dietas semi-húmedas, los resultados de digestibilidad obtenidos en este estudio son similares (68,98,100,102,103). Sin embargo, la comparación del $CDA_{Lípidos}$ de los piensos en los que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas del presente estudio con el trabajo de 2015 de Morillo-Velarde et al. (10) permite observar que los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran digestibilidades lipídicas mayores, lo que podría deberse a la presencia de ácidos grasos neutros. Morillo-Velarde et al. (10) determinaron que la digestibilidad de lípidos neutros disminuye según aumenta la cantidad de lípidos en la dieta. Sin embargo, para poder corroborarlo, sería necesario realizar la medición de los distintos ácidos grasos en el presente estudio.

En cuanto a la composición nutricional de la glándula digestiva, cabe decir que no se encontraron diferencias entre la humedad que presentaban las dietas probadas en el presente estudio y las obtenidas en trabajos anteriores, ya que todas ellas se encuentran en un rango de entre el 56 y el 72 %. Por otro lado, los individuos alimentados con pienso elaborado con harina de sangre y los alimentados con concentrado de proteína de soja presentaron una mayor cantidad de proteína en su glándula digestiva, dando unos valores de un 67,13 y un 66,82 %, respectivamente. Sin embargo, se obtuvieron niveles de proteína levemente mayores a los obtenidos anteriormente en otros trabajos (10,68,97,98,100,102,103).

La glándula digestiva de los pulpos alimentados con el pienso que contenía harina de sangre, en proporción, presentaba casi el doble de lípidos que las glándulas digestivas de los individuos alimentados con piensos que contenían concentrado de proteínas vegetales. Sin embargo, el nivel de carbohidratos fue muy inferior, lo que podría deberse a la menor ingesta con esta dieta, y a la movilización de reservas de la glándula digestiva, ya que se ha comprobado que en periodos de ayuno hay mayor gasto de carbohidratos.

Asimismo, cabe resaltar que los niveles de lípidos en la glándula digestiva son mucho menores que los obtenidos con otras dietas semi-húmedas probadas anteriormente, debido a que los piensos del presente trabajo contenían una menor cantidad de lípidos. Además, no se encontraron diferencias entre el contenido en cenizas en la glándula digestiva del presente estudio y en trabajos previos (10,68,97,98,100-103).

En cuanto a la composición nutricional de la carcasa del pulpo, los niveles más altos de proteína fueron los obtenidos con las dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas, siendo mayor el obtenido en la carcasa de los individuos alimentados con el pienso que contenía harina de sangre ($79,09 \pm 1,35$ %). Estos fueron similares a los de otras dietas semi-húmedas, es decir, de alrededor del 70 - 80 % en peso seco (10,68,97,98,100-103); y a las dietas húmedas como las elaboradas por Cerezo Valverde et al. en 2008 (50).

Asimismo, la cantidad de lípidos medidos en la carcasa de los pulpos fue baja y similar a la obtenida en los trabajos previos con dietas húmedas (50,96), semi-húmedas (97,98,100,101,103) y extruídas (73), y levemente inferiores a las obtenidas con dietas naturales, ya que con estas crecen más y por tanto acumulan más grasa (45,84,92). Por último, cabe decir que las cenizas obtenidas en la carcasa de los pulpos alimentados con dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas no presentaron diferencias significativas entre ellas y a su vez fueron un poco mayores que las obtenidas en los individuos alimentados con el pienso control. Estos valores son muy similares a los obtenidos en muchos trabajos previos donde los resultados rondaron entre el 9 y 12 % en peso seco (10,45,50,71,74,96,98,100).

6) Conclusiones

En conclusión, los resultados del presente estudio muestran que a pesar de que las tres dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas que se han probado contenían ingredientes altos en proteína y unas tasas de alimentación similares a las obtenidas con el pienso control queda mucho por mejorar, ya que su crecimiento en comparación con el pienso control no ha sido tan favorable.

En el caso de las dietas formuladas con concentrados de proteínas vegetales, el menor crecimiento es debido a que no se cubrieron las necesidades de la especie, posiblemente hubo deficiencias de aminoácidos esenciales.

La harina de sangre disminuye la palatabilidad de las dietas en el pulpo, lo cual provocó una menor ingesta de alimento y por tanto, del crecimiento.

La sustitución de las fuentes marinas en la composición de los piensos para pulpo por concentrados vegetales y harina de sangre afectó a la digestibilidad de los mismos, siendo la digestibilidad proteica inferior en las dietas con sustitución de las fuentes marinas.

La composición nutricional de la glándula digestiva del pulpo común no se vio modificada con las dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas por concentrados de proteína vegetal, sin embargo, la inclusión de harina de sangre sí influyó en la composición corporal de este órgano.

La composición nutricional de la carcasa se vio modificada con las dietas en las que se sustituyeron las fuentes proteicas marinas, tanto las que contenían concentrados de proteína vegetal como animal.

7) Referencias bibliográficas

1. Miliou H, Fintikaki M, Kountouris T, Tzitzinakis M, Verriopoulos G. *Octopus vulgaris* (Lamarck, 1798) [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/species/3571/en>
2. APROMAR. La Acuicultura en España 2018. En: Ministerio de agricultura y pesca, alimentación y medioambiente [Internet]. 2018. p. 94. Disponible en: http://www.apromar.es/sites/default/files/2017/informe/APROMAR_Informe_ACUICULTURA_2017.pdf
3. JACUMAR. Producción de talla comercial (Tn) acuicultura año 2017. 2018.
4. Rey-Méndez M. Cultivo de pulpo: una alternativa en la producción a pequeña escala. Foro Iberoam los Recur Costeros y la Acuic. 2015;VII:179-92.
5. Cerezo Valverde J, Tomás Vidal A, Martínez-Llorens S, Pascual MC, Gairín JI, Estefanell J, et al. Selection of marine species and meals for cephalopod feeding based on their essential mineral composition. *Aquac Nutr*. 2015;21(5):726-739.
6. Iglesias J, Fuentes L, Villanueva R. *Cephalopod culture*. Springer. 2014. 492 p.
7. Passi S, Cataudella S, Di Marco P, De Simone F, Rastrelli L. Fatty acid composition and antioxidant levels in muscle tissue of different Mediterranean marine species of fish and shellfish. *J Agric Food Chem*. 2002;50(25):7314-7322.
8. Sidwell VD, Foncannon PR, Loomis AL, Buzzell DH. Composition of the Edible Portion of Raw (Fresh or Frozen) Crustaceans, Finfish , and Mollusks. IV. Vitamins. *MFR Pap*. 1974;1355:21-35.
9. Villanueva R, Escudero JM, Deulofeu R, Bozzano A, Casoliva C. Vitamin A and E content in early stages of cephalopods and their dietary effects in *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture* [Internet]. 2009;286:277-282. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.032>
10. Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, García-García B. Utilization of diets with different fish oil content in common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) and resulting changes in its biochemical composition. *Aquac Res*. 2015;46(12):2871-2884.
11. Navarro JC, Villanueva R. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: Deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture*. 2003;219(1-4):613-631.
12. Sinanoglou VJ, Miniadis-Meimaroglou S. Fatty acid of neutral and polar lipids of (edible) Mediterranean cephalopods. *Food Res Int*. 1998;31(6-7):467-473.
13. Quetglas A, Alemany F, Carbonell A, Merella P, Sánchez P. Biology and fishery of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, caught by trawlers in Mallorca (Balearic Sea, Western

- Mediterranean). *Fish Res.* 1998;36(2-3):237-249.
14. Fernández-Rueda P, García-Flórez L. *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda) fishery management assessment in Asturias (north-west Spain). *Fish Res.* 2007;83:351-354.
 15. Jereb P, Allcock AL, Lefkaditou E, Hastie LC, Pierce G. J. Cephalopod biology and fisheries in Europe: II. Species Accounts [Internet]. Anderson ED, editor. ICES Cooperative Research Report. Copenhagen; 2015. 360 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Ana_Moreno5/publication/278302329_Octopus_vulgaris/links/558183bb08ae1b14a0a0fa43.pdf
 16. Lesser M. *Advances In Marine Biology*. 1.^a ed. Fuiman LA, Young CM, editores. Elsevier Ltd; 2014. 468 p.
 17. JACUMAR. Producción acuícola nacional de pulpo (*Octopus vulgaris*). Periodo 2010-2017. 2018.
 18. Iglesias J, Otero J, Moxica C, Fuentes L, FJ S. The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using Artemia and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquac Int.* 2004;12:481-487.
 19. Tenreiro U. El Instituto Español de Oceanografía logra reproducir el pulpo en cautividad [Internet]. Instituto Español de Oceanografía. 2018. p. 3. Disponible en: http://www.ieo.es/es/web/vigo/noticias?p_p_id=ieolistadosestructuramain_WAR_IEOListadoContenidosPorEstructuraportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-7&p_p_col_count=2&_ieolistadosestructuramain_WAR_IEOListadoContenidosPorE
 20. Fuentes L, Sánchez FJ, Lago MJ, Iglesias J, Pazos G, Linares F. Growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae fed on three Artemia-based diets complemented with frozen fish flakes, crushed zooplankton and marine microalgae. *Sci Mar* [Internet]. 2011;75(4):771-777. Disponible en: <http://scientiamarina.revistas.csic.es/index.php/scientiamarina/article/view/1299/1380>
 21. Carrasco JF, Arronte JC, Rodríguez C. Paralarval rearing of the common octopus, *Octopus vulgaris* (Cuvier). *Aquac Res.* 2006;37(1):1601-1605.
 22. Abuín E. Los científicos avanzan para hacer viable el cultivo de pulpo a nivel comercial [Internet]. La Voz de Galicia. 2018. Disponible en: https://www.lavozdegalicia.es/noticia/maritima/2018/01/18/ieo-logra-avances-cultivo-pulpo-viable-nivel-comercial/0003_201801G18P34991.htm
 23. De Luca D, Catanese G, Procaccini G, Fiorito G. *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) in the Mediterranean Sea: Genetic Diversity and Population Structure. *PLoS One* [Internet].

- 2016;11(2):1-19. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26881847%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4755602>
24. Vaz-Pires P, Seixas P, Barbosa A. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): A review. *Aquaculture*. 2004;238(1-4):221-238.
 25. Iglesias J. Reproducción y cultivo del pulpo (*Octopus vulgaris*). *Inst Español Oceanogr*. 1999;1-8.
 26. Lee PG. Nutrition Of Cephalopods: Fueling The System. *Mar Freshw Behav Physiol*. 1994;25(1-3):35-51.
 27. Nixon M. The lifespan of *Octopus vulgaris* Lamarck. *Proc malac Soc Lon*. 1969;38:529-540.
 28. Aguado-Giménez F, García García B. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquac Int*. 2002;10:361-377.
 29. Mangold K, von Boletzky S. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar Biol*. 1973;19(1):7-12.
 30. Iglesias J, Sánchez FJ, Otero J, Moxica C. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): Present knowledge, problems and perspectives. *Recent Adv Mediterr Aquac finfish species Divers Zaragoza CIHEAM*. 2000;47:313-321.
 31. Estefanell JA. Optimización de las condiciones de engorde y avance en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de pulpo común *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*; 2012.
 32. Amor MD, Norman MD, Roura A, Leite TS, Gleadall IG, Reid A, et al. Morphological assessment of the *Octopus vulgaris* species complex evaluated in light of molecular-based phylogenetic inferences. *Zool Scr*. 2017;46(3):275-288.
 33. Amor MD, Laptikhovsky V, Norman MD, Strugnell JM. Genetic evidence extends the known distribution of *Octopus insularis* to the mid-Atlantic islands Ascension and St Helena. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* [Internet]. 2017;97(4):753-758. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0025315415000958/type/journal_article
 34. Guerra Á. Mollusca, Cephalopoda. En: *Fauna Iberica*, vol.1. Ramos M, editor. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC; 1992. 327 p.
 35. Jereb P, Roper CFE, Norman MD, Finn JK. Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date. Volume 3. Octopods and Vampire Squids. *FAO species catalogue for fish purposes*. 2014;(4):370.

36. Cuccu D, Mereu M, Cau A, Pesci P, Cau A. Reproductive development versus estimated age and size in a wild Mediterranean population of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopodidae). *J Mar Biol Assoc United Kingdom*. 2013;93(3):843-849.
37. Vidal ÉAG, Fuentes L, da Silva LB. Defining *Octopus vulgaris* populations: A comparative study of the morphology and chromatophore pattern of paralarvae from Northeastern and Southwestern Atlantic. *Fish Res*. 2010;106(2):199-208.
38. Fernández-Álvarez F, Machordom A, García-Jiménez R, Salinas-Zavala CA, Villanueva R. Predatory flying squids are detritivores during their early planktonic life. *Sci Rep*. 2018;8(1):1-12.
39. Prato E, Portacci G, Biandolino F. Effect of diet on growth performance, feed efficiency and nutritional composition of *Octopus vulgaris*. *Aquaculture* [Internet]. 2010;309(1-4):203-211. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.036>
40. Hernández Urcera J, Garci ME, Roura Á, González AF, Cabanellas-Reboredo M, Morales Nin B, et al. Cannibalistic Behavior of Octopus (*Octopus vulgaris*) in the Wild. *J Comp Psicol*. 2014;128(4):427.
41. Ibáñez CM, Keyl F. Cannibalism in cephalopods. *Rev Fish Biol Fish*. 2010;20(1):123-136.
42. Gleadall IG. *Octopus sinensis* d'Orbigny, 1841 (Cephalopoda: Octopodidae): Valid Species Name for the Commercially Valuable East Asian Common Octopus. *Species Divers* [Internet]. 2016;21(1):31-42. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/specdiv/21/1/21_31/_article
43. García-Garrido S. Desarrollo de dietas artificiales para el pulpo común *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), con el fin de optimizar su cultivo en la fase de engorde. Universidad de Sevilla; 2015.
44. Iglesias J, Sánchez FJ, Bersano JGF, Carrasco JF, Dhont J, Fuentes L, et al. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture*. 2007;266(1-4):1-15.
45. García García B, Cerezo Valverde J. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. *Aquaculture*. 2006;253:502-511.
46. Castro BG, Garrido JL, Sotelo CG. Changes in composition of digestive gland and mantle muscle of the cuttlefish *Sepia officinalis* during starvation. *Mar Biol*. 1992;20:11-20.
47. Morillo-Velarde PS. Desarrollo de Piensos Formulados y Requerimientos Nutritivos del Pulpo de Roca (*Octopus vulgris*) [Internet]. Universidad de Murcia; 2013. Disponible en: http://www.imida.es/documents/13436/877435/TESIS_PIEDAD_2013.pdf/b72da8de-40e4-48c5-8e67-b2cfb927eb37
48. Querol P. Diseño y optimización de un pienso extrusionado para la alimentación y

- crecimiento del pulpo común (*Octopus vulgaris*). Universitat Politècnica de València; 2014.
49. O'Dor RK, Mangold K, Boucher-Rodoni R, Wells MJ, Wells J. Nutrient Absorption, Storage and Remobilization in *Octopus Vulgaris*. Mar Freshw Behav Physiol. 1984;11:239-258.
 50. Cerezo Valverde J, Hernández MD, Aguado-Giménez F, García García B. Growth, feed efficiency and condition of common octopus (*Octopus vulgaris*) fed on two formulated moist diets. Aquaculture. 2008;275:266-273.
 51. Estefanell J, Roo J, Guirao R, Afonso JM, Fernández-Palacios H, Izquierdo M, et al. Efficient utilization of dietary lipids in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) fed fresh and agglutinated moist diets based on aquaculture by-products and low price trash species. Aquac Res. 2011;44:1-13.
 52. Garcia S, Domingues P, Navarro JC, Hachero I, Garrido D, Rosas C. Growth, partial energy balance, mantle and digestive gland lipid composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) fed with two artificial diets. Aquac Nutr. 2011;17(2):174-187.
 53. Quintana D, Domingues P, García S. Effect of two artificial wet diets agglutinated with gelatin on feed and growth performance of common octopus (*Octopus vulgaris*) sub-adults. Aquaculture. 2008;280:161-164.
 54. Rosa R, Pereira J, Nunes M. Biochemical composition of cephalopods with different life strategies, with special reference to a giant squid, *Architeuthis* sp. Mar Biol. 2005;146:739-751.
 55. Villanueva R, Riba J, Ruíz-Capillas C, González A V, Baeta M. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. Aquaculture. 2004;242:455-578.
 56. Caruso G, Giordano D, Mancuso M, Genovese L. Studio preliminare degli enzimi digestivi di *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758 ed *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Mollusca: Cephalopoda). Biol Mar Medit. 2004;11(2):367-369.
 57. Houlihan DE, McMillan DN, Agnisola C, Trara Genoino I, Foil L. Protein synthesis and growth in *Octopus vulgaris*. Mar Freshw Behav Physiol. 1990;106:251-259.
 58. Cerezo Valverde J, Martínez-Llorens S, Tomás Vidal A, Jover M, Rodríguez C, Estefanell J, et al. Amino acids composition and protein quality evaluation of marine species and meals for feed formulations in cephalopods. Aquac Int. 2013;21:413-433.
 59. Rosa R, Costa P, Nunes M. Effect of sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca: Cephalopoda). Mar Biol. 2004;145:563-574.
 60. Aguila J, Cuzon G, Pascual C, Domingues PM, Gaxiola G, Sánchez A, et al. The effects of

- fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: Digestive enzyme activity, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture*. 2007;273:641-655.
61. García-Garrido S, Hachero-Cruzado I, Garrido D, Rosas C, Domingues P. Lipid composition of the mantle and digestive gland of *Octopus vulgaris* juveniles (Cuvier, 1797) exposed to prolonged starvation. *Aquac Int*. 2010;18:1223-1241.
 62. Moltshaniwskyj N, Johnston D. Evidence that lipid can be digested by the dumpling squid *Euprymna tasmanica*, but is not stored in the digestive gland. *Mar Biol*. 2006;149:565-572.
 63. Estefanell J, Socorro J, Izquierdo M, Roo J. Effect of two fresh diets and sexual maturation on the proximate and fatty acid profile of several tissues in *Octopus vulgaris*: specific retention of arachidonic acid in the gonads. *Aquac Int*. 2015;21:274-285.
 64. Navarro JC, Villanueva R. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: An approach to their lipid requirements. *Aquaculture*. 2000;183(1-2):161-177.
 65. Phillips KL, Jackson GD, Nichols PD. Predation on myctophids by the squid *Moroteuthis ingens* around Macquarie and Heard Islands: stomach contents and fatty acid analyses. *Mar Ecol Prog Ser*. 2001;215:179-189.
 66. Sieiro MP, Aubourg SP, Roucha F. Seasonal study of the lipid composition in different tissues of the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Eur J Lipid Sci Technol*. 2006;108:479-487.
 67. Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, Serra Llinares RM, García García B. Energetic contribution of carbohydrates during starvation in common octopus (*Octopus vulgaris*). *J Molluscan Stud*. 2011;77(3):318-320.
 68. Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, Aguado-Giménez F, Hernández MD, García García B. Effective use of glucose rather than starch in formulated semimoist diets of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquac Nutr*. 2016;22(1):134-141.
 69. Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, García García B. Mineral contents of the muscle tissue and the digestive gland of *Octopus vulgaris* during short-term starvation. *Aquac Nutr*. 2018;24(2):886-893.
 70. Lall SP. The minerals. En: *Fish Nutrition*. 3.^a ed. San Diego, CA: Elsevier Science; 2002. p. 259-308.
 71. Celdrán Sancho MM, Cerezo Valverde J, Saéz Sironi J, García García B. Is copper supplementation required in formulated feeds for *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797)? *J Shellfish Res*. 2015;34(2):473-480.
 72. Petza D, Katsanevakis S, Lykouri N, Spiliotis V, Verriopoulos G. Investigation of the potential effect of diet, body mass and maturity on growth and feed performance of common octopus *Octopus vulgaris*: An information theory approach. *Aquac Nutr*.

- 2011;17(2):348-361.
73. Querol P, Gairin I, Guerao G, Jover M, Tomás A. Growth and feed efficiency of *Octopus vulgaris* fed on dry pelleted. *Aquac Res.* 2015;46(5):1132-1138.
 74. Miliou H, Fintikaki M, Kountouris T, Verriopoulos G. Combined effects of temperature and body weight on growth and protein utilization of the common octopus, *Octopus vulgaris*. *Aquaculture.* 2005;249:245-256.
 75. Mazón MJ, Piedecausa MA, Hernández MD, García García B. Evaluation of environmental nitrogen and phosphorus contributions as a result of intensive ongrowing of common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture.* 2007;266:226-235.
 76. Rodríguez C, Carrasco JF, Arronte JC, Rodríguez M. Common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) juvenile ongrowing in floating cages. *Aquaculture.* 2006;254(1-4):293-300.
 77. Pham CK, Isidro E. Growth and Mortality of Common Octopus (*Octopus vulgaris*) Fed a Monospecific Fish Diet. *J Shellfish Res* [Internet]. 2009;28(3):617-623. Disponible en: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.2983/035.028.0326>
 78. García-Garrido S, Hachero-Cruzado I, Domingues P, López N, Rosas C. Effects of fish hydrolysate (CPSP®) on growth and digestive gland lipid composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) juveniles. *Aquac Nutr.* 2011;17:825-839.
 79. Domingues P, Garcia S, Hachero-Cruzado I, Lopez N, Rosas C. The use of alternative prey (crayfish, *Procambarus clarki*, and hake, *Merluccius gayi*) to culture *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797). *Aquac Int.* 2010;18:487-499.
 80. Domingues P, Garcia S, Garrido D. Effects of three culture densities on growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Aquac Int.* 2010;18:165-174.
 81. Kwon I, Kim T. Growth and mortality of the juvenile common octopus (*Octopus vulgaris*) in pipe- and tire-type shelters placed in flow-through seawater tanks. *J Korean Soc Fish Technol* [Internet]. 2015;51(1):1-8. Disponible en: <http://ksft.or.kr/journal/article.php?code=20369>
 82. Bastos P, dos Reis I, Costa RL, Ferreira JF. Desempenho do polvo *Octopus vulgaris* alimentado com monodieta de mexilhão (*Perna perna*). *Arq Bras Med Veterinária e Zootec.* 2018;70(1):315-320.
 83. Nixon M. Changes in body weight and intake of food by *Octopus vulgaris*. *J Zool, Lond.* 1966;150:1-9.
 84. Estefanell J, Roo J, Fernández-Palacios H, Izquierdo M, Socorro J, Guirao R. Comparison Between Individual and Group Rearing Systems in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *J World Aquac Soc.* 2012;43(1):63-72.
 85. Estefanell J, Roo J, Guirao R, Izquierdo M, Socorro J. Benthic cages versus floating cages

- in *Octopus vulgaris*: Biological performance and biochemical composition feeding on Boops boops discarded from fish farms. *Aquac Eng* [Internet]. 2012;49:46-52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.02.001>
86. Chapela A, González ÁF, Dawe EG, Rocha FJ, Guerra Á. Growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) in cages suspended from rafts. *Sci Mar*. 2006;70(1):121-129.
 87. Delgado M, Gairín JI, Carbó R, Aguilera C. Growth of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) in tanks in the Ebro Delta (NE Spain): effects of temperature, salinity and culture density. *Sci Mar* [Internet]. 2011;75(1):53-59. Disponible en: <http://scientiamarina.revistas.csic.es/index.php/scientiamarina/article/view/1212/1273>
 88. Bastos P, Brandão AG, Ferreira JF, Rodrigues Melo CM. Weight gain of *Octopus vulgaris* in small volume floating cages. *Rev Agropecuária Catarinense*. 2014;27:51-53.
 89. Cagnetta P, Sublimi A. Productive performance of the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) when fed on a monodiet. *Cah Options Méditerranéennes*. 2000;47:331-336.
 90. García García B, Aguado-Giménez F. Influence of diet on on-growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture*. 2002;211:171-182.
 91. Petza D, Katsanevakis S, Verriopoulos G. Experimental evaluation of the energy balance in *Octopus vulgaris*, fed ad libitum on a high-lipid diet. *Mar Biol*. 2006;148(4):827-832.
 92. Biandolino F, Portacci G, Prato E. Influence of natural diet on growth and biochemical composition of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797. *Aquac Int*. 2010;18:1163-1175.
 93. Estefanell J, Socorro J, Tuya F, Izquierdo M, Roo J. Growth, protein retention and biochemical composition in *Octopus vulgaris* fed on different diets based on crustaceans and aquaculture by-products. *Aquaculture*. 2011;322-323:91-98.
 94. García García J, Rodríguez González L., García García B. Cost analysis of octopus on-growing installation in Galicia. *Spanish J Agric Res*. 2004;2(4):531-537.
 95. Estefanell J, Socorro J, Izquierdo M, Roo J. Growth, food intake, protein retention and fatty acid profile in *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) fed agglutinated moist diets containing fresh and dry raw materials based on aquaculture by-products. *Aquac Res*. 2013;45(1):1-14.
 96. Cerezo Valverde J, Hernández MD, Aguado-Giménez F, Morillo-Velarde PS, García García B. Performance of formulated diets with different level of lipids and glutamate supplementation in *Octopus vulgaris*. *Aquac Res*. 2013;44(12):1952-1964.
 97. Cerezo Valverde J, García BG. High feeding and growth rates in common octopus (*Octopus vulgaris*) fed formulated feeds with an improved amino acid profile and mixture of binders. *Aquac Res*. 2017;48(7):3308-3319.
 98. Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, Hernández MD, Aguado-Giménez F, García García

- B. Growth and digestibility of formulated diets based on dry and freeze-dried ingredients in the common octopus (*Octopus vulgaris*). Aquaculture [Internet]. 2012;368-369:139-144. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.028>
99. Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, García García B. A simple format feed to test the acceptability of ingredients for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797). Aquac Res. 2013;46(4):1-7.
100. Rodríguez-González T, Cerezo Valverde J, Sykes A V., García García B. Performance of raw material thermal treatment on formulated feeds for common octopus (*Octopus vulgaris*) on growing. Aquaculture [Internet]. 2015;442:37-43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.035>
101. Cerezo Valverde J, Hernández MD, Aguado-Giménez F, García García B. Development of low-lipid formulated feeds with different protein/energy ratios for *Octopus vulgaris* on growing. Aquac Nutr. 2016;1-11.
102. Rodríguez-González T, Cerezo Valverde J, Sykes AV, García García B. Common octopus (*Octopus vulgaris*) performance when including fasting on feeding schemes: preliminary data regarding a formulated feed. Adv Res. 2018;13(4):1-11.
103. Rodríguez-González T, Cerezo Valverde J, García García J. Soybean lecithin dietary supplementation in *Octopus vulgaris* formulated feeds: growth, feed efficiency, digestibility and nutritional composition. Aquac Res. 2018;1-15.
104. Querol P, Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, Martínez-Llorens S, Moñino A V, Jover M, et al. First assessment of acceptance of dry extruded diets for *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). Aquac Res [Internet]. 2012;1-3. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/are.12006>
105. Querol P, Morillo-Velarde PS, Cerezo Valverde J, Silvia ML, Moñino AV, Cerdá MJ, et al. Inclusion of fish and krill meal in extruded diets for *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797): Assessment of acceptance. Aquac Res. 2014;45:1421-1424.
106. Querol P, Gairin I, Guerao G, Monge R, Jover M, Tomas A. Effect of two extruded diets with different fish and squid meal ratio on growth, digestibility and body composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). Aquac Res. 2015;46(10):2481-1489.
107. Valverde JC, Hernández MD, García-Garrido S, Rodríguez C, Estefanell J, Gairín JI, et al. Lipid classes from marine species and meals intended for cephalopod feeding. Aquac Int. 2012;20(1):71-89.
108. Cerezo Valverde J, García García B. Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) at different weights and temperatures: Analysis of respiratory behaviour. Aquaculture. 2005;244(1-4):303-314.