

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCOLA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCOLA POLITÈCNICA
SUPERIOR DE GANDIA

**“Monitorización acústica del desarrollo larvario de
dorada (*Sparus aurata*) y atún rojo (*Thunnus thynnus*) en
tanques”**

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Autor/a:
Felipe Andrés Muñoz Andrade

Tutor/a:
Isabel Perez i Arjona
Vicent Puig i Pons
Víctor Espinosa i Roselló

GANDIA, 2019

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
I. INTRODUCCIÓN	6
1.1 OBJETIVOS.....	9
III. MATERIAL Y MÉTODOS	9
3.1 Experimento doradas.....	9
Muestreo biológico de larvas de doradas	9
Medidas abióticas	12
Metodología acústica de doradas	13
Obtención de datos acústicos de doradas.....	15
3.2 Experimento atunes.....	15
Muestreo biológico de larvas de atunes	17
Metodología acústica de atunes	17
Obtención de datos acústicos de atunes.....	18
3.3 Análisis de datos	19
IV. RESULTADOS	20
Resultados abióticos.....	20
Resultados biológicos de larvas de doradas	20
Resultados acústicos de larvas de doradas.....	23
Resultados biológicos de larvas de atunes.....	27
Resultados acústicos de larvas de atunes con ecosonda de 200 kHz.....	28
Resultados de acústicos larvas de atunes con ecosonda de 333kHz.....	31

V. DISCUSIÓN	36
Discusión doradas.....	36
Discusión atunes.....	36
VI. BIBLIOGRAFÍA	37

Resumen

Se obtuvieron valores de potencia del blanco o Target Strength (TS) de ecoregistros de ecosondas de 200 kHz en un tanque de crecimiento de doradas (*Sparus aurata*) y ecoregistros de ecosondas de 200 kHz y 333 kHz en tanques de crecimiento de atunes (*Thunnus thynnus*), con el fin de relacionar los valores de TS obtenidos con el desarrollo larvario. Para esto se realizaban dos experimentos en tiempos distintos, en un tanque de 1.6m de alto y 2m de diámetro, se llevaron a cabo medidas diarias de longitud total (mm) y diámetro (mm) de la vejiga natatoria si estaba presente. Las medidas fueron realizadas en las instalaciones del Centro de Cultivo de Mazarrón, en el tanque G4, con un transductor situado en el fondo del tanque, además se realizaron dos cierres en el flujo de aire uno nocturno y otro diurno, con el fin de obtener valores de TS control sin el efecto de las burbujas de aire. Los análisis de los valores de TS evidenciaron dos grupos a lo largo del tiempo, correspondiente a las larvas con y sin la vejiga natatoria desarrollada. Los resultados de la distribución del TS muestran una relación directa con la longitud y con el diámetro de la vejiga natatoria de las larvas.

Palabras clave: Target Strength, Vejiga natatoria, Longitud total (mm), tanque de desarrollo, larvas de dorada, Atún rojo, ecosonda.

Abstract

Target Strength (TS) values of 200 kHz echo sounder echoregisters were obtained in a gilthead growth tank (*Sparus aurata*) and 200 kHz and 333 kHz echo sounder echoregisters in tuna growth tanks (*Thunnus thynnus*), with the in order to relate the values of TS obtained with larval development. For this, two different experiments were performed at different times, in a 1.6m high tank and 2m in diameter, daily measurements of total length (mm) and diameter (mm) of the swim bladder were performed if present. The measurements were made at the facilities of the Mazarrón Cultivation Center, in the G4 tank, with the transducer located at the bottom of the tank, two closures were made in the air flow one night and one day, in order to obtain values of TS control without the effect of air bubbles. When analyzing the values of TS, two groups are observed over time corresponding to the larvae with and without the developed swim bladder. The results of the distribution of the TS show a direct relationship with the length and with the diameter of the swim bladder of the larvae.

Keywords: Target force, Swimming bladder, Total length (mm), development tank, sea bream larvae, Bluefin tuna, echo sounder.

I. Introducción

Debido a la constante disminución de los recursos marinos naturales desde los años 60-70 por una sobreexplotación, la acuicultura ha tomado un rol importante para la obtención de estos recursos. Tal como muestra la FAO (2018), la cosecha de acuicultura en España en el año 2018 se estima en 348.395 toneladas y un valor en primera venta de 472.3 millones de euros (APROMAR, 2019), de los cuales la producción de peces de doradas (*Sparus aurata*) y del atún rojo (*Thunnus thynnus*) significan una gran parte de la producción con 14.930 toneladas de doradas en el año 2018 y de 1.030 toneladas en el año 2017 de atún rojo como se muestra en la Figura 1.

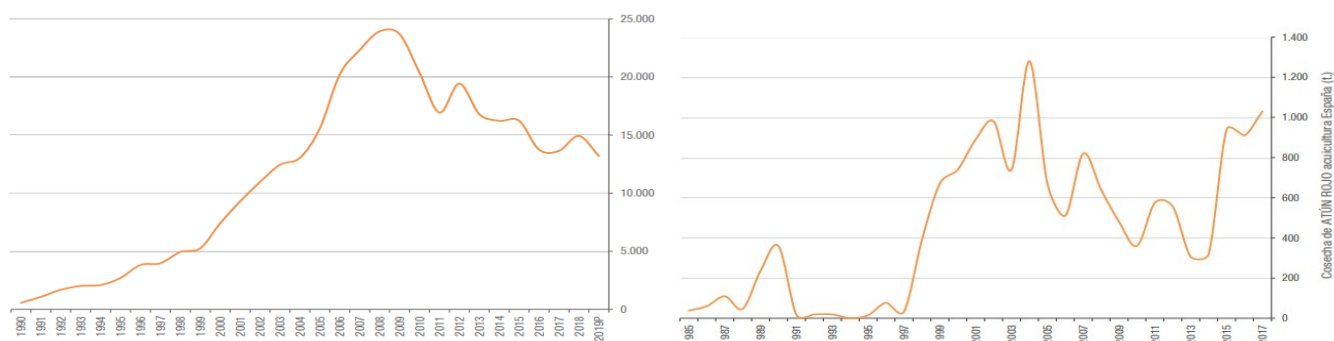


Figura 1: Cosecha por año en toneladas mediante acuicultura de doradas (a) y de atunes (b). Donde eje x es años y eje y son toneladas.

Ambas especies son de gran importancia económica en la costa del Mediterráneo, en un país como España donde su producción de recursos marinos generados por acuicultura la sitúa en el tercer puesto de la producción europea. La dorada es un pez cuyo ciclo de vida ya se puede realizar completamente en cautiverio, mientras que el atún rojo aunque ya se ha cerrado su ciclo de vida en cautiverio, su producción todavía depende de la extracción directa del mar mediante el arte de pesca de arrastre y de almadraba. Esta práctica está cada vez más regulada y restringida en la cantidad de toneladas permitida, mediante un plan de recuperación de la fauna marina, que en el año 2019 permite una extracción de 5.532,16 toneladas (Reglamento (UE) 2019/124 del Consejo, de 30 de enero de 2019). En ambas especies tanto en cautiverio como en la naturaleza, a lo largo del desarrollo larval los primeros días posteriores a la eclosión, los peces se nutren de su saco vitalino. Sin embargo, este proceso en doradas puede durar de tres a ocho días (Ortega, 2008), donde también presentan pigmentación completa de los ojos y la boca desarrollada, en tanto, en los atunes toma de dos a tres días (Kaji et al., 1996). Además, en ambos casos muestran un desarrollo lento del peso corporal en las primeras semanas desde la eclosión, tal como se muestra en la figura 2 y 3.

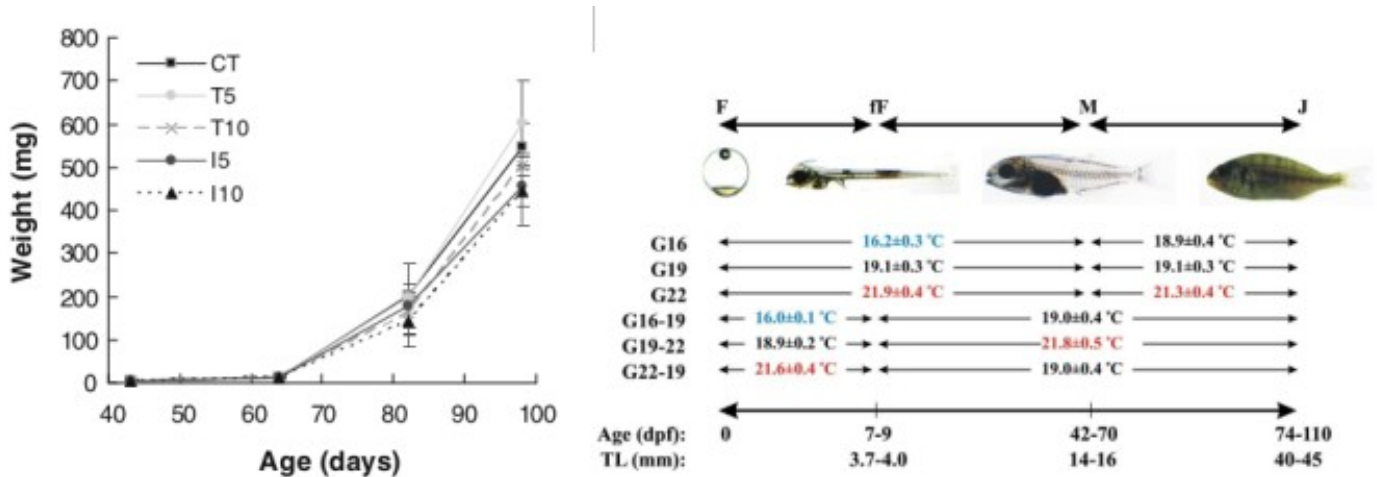


Figura 2: en A evolución del peso corporal en mg a lo largo del tiempo de las doradas (Viscaino et al., 2016) y en B Longitud total (mm) y edad después de colocado los huevos fecundados. Las etapas: fF (saco vitelino), M (primera alimentación) y J (juveniles) de doradas. (Georgakopoulou et al., 2010).

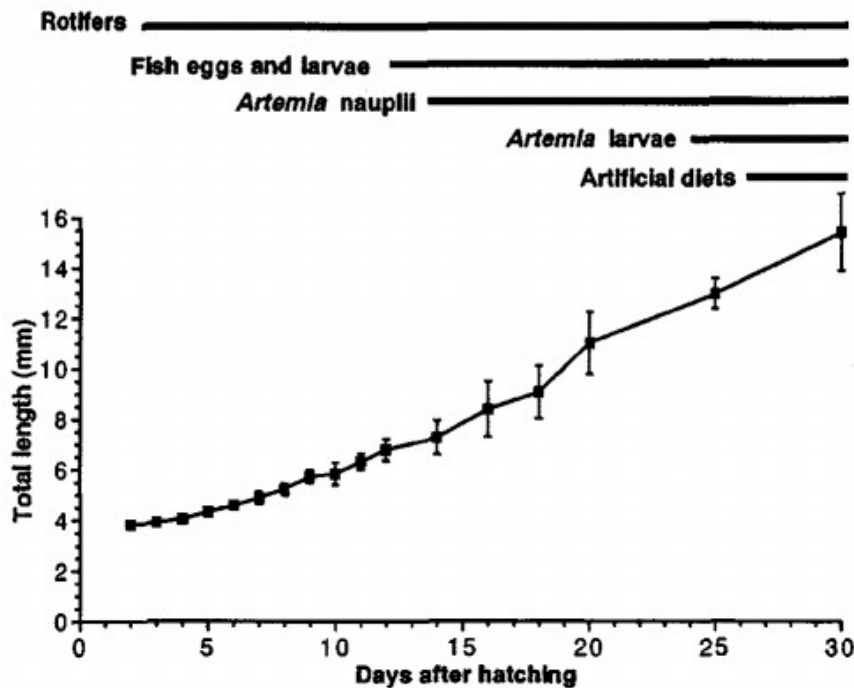


Figura 3: Desarrollo de larvas de atún rojo en el tiempo desde su eclosión, con su respectivo régimen de alimentación (Kaji et al, 1996).

Posterior al agotamiento del saco vitalino y el desarrollo de su sistema digestivo, aproximadamente entre el octavo y noveno día posterior a la eclosión (PDH) en doradas (Kitajima et al, 1977) y en atunes al cuarto día posterior a la eclosión (Kaji et al., 1996 y Kurata et al., 2012), comienza el desarrollo de la vejiga natatoria, órgano presente en algunos tipos de peces que tiene como función regular los cambios de presión debido a la variación de la profundidad.

La teoría de propagación del sonido, consiste en ondas que transmiten energía y que se mueven por un medio definido, al igual que la teoría de propagación de ondas electromagnéticas, su propagación varía según condiciones físicas del medio, ambas sufren fenómenos de dispersión, absorción y reflexión. En el agua, el sonido puede transmitirse a una mayor distancia que la luz, por lo que son estas ondas las utilizadas para investigar variados fenómenos en ambientes acuáticos, como estudiar fondos marinos, la distribución de la fauna en la columna de agua, así como la realización de estudios en ambientes cerrados como son tanques de engorde de peces. Para estos estudios se recurre a un método conocido como acústica submarina activa, donde se utilizan herramientas capaces de generar ondas acústicas artificiales, las cuales viajan por el medio acuático y cuando inciden en algún objeto o se encuentran con un cambio del medio, esta onda es absorbida y reflejada hacia su origen, al ratio expresado en escala logarítmica entre la intensidad de onda reflejada y la intensidad de la onda emitida se le conoce como potencia del blanco o Target strength (TS y se mide en dB), este parámetro se define matemáticamente en la Formula 1.

$$TS = 10 \log \left(\frac{I_{bs}}{I_i} \right) \quad (1)$$

Donde I_{bs} es la intensidad de la onda reflejada e I_i es la intensidad de la onda incidente (Lurton, 2004). Se ha usado este parámetro para muchos estudios de biomasa y crecimiento de peces tanto en tanques como en el mar y se ha demostrado que los valores de TS varían según la morfología del pez, su tamaño, posición y su forma. También se ha estudiado las variaciones del TS asociado al tamaño y al estado de la vejiga natatoria de un pez.

La vejiga natatoria de los peces se comporta como una esfera de gases en condiciones ideales y que responde a las ondas acústicas de fuentes a distintas distancias, donde el volumen de esta esfera a temperatura constante, es inversamente proporcional a la presión, al ser perturbada por una fuerza externa la esfera de gas oscila a una frecuencia determinada por la compresibilidad del gas y la inercia del medio donde esta que se mueve con respecto a la variación del volumen de la burbuja, en este caso en el agua de mar. Si la frecuencia externa se aproxima a la frecuencia de la burbuja de gas, se genera un fenómeno físico llamado resonancia, generando una radiación de ondas acústicas mayor que en diferentes frecuencias (MacLennan y Simmonds, 1992). La expresión matemática de la resonancia se muestra en la formula 2, donde P_o (Pa) es la presión ambiental ρ es la densidad del agua (agua de mar 1029 kg m^{-3}) y α es el radio de la burbuja.

$$f_r = \frac{1}{2\pi\alpha} \sqrt{\frac{3\gamma P_o}{\rho}} \quad (2)$$

Mediante el uso de eco-sondas tanto en estudios de laboratorio con peces fijados, tanques de engorde o en la naturaleza, se ha podido relacionar distintos valores de TS a distintas

especies de peces algunas de estas especies presentan una vejiga natatoria. Se ha determinado en varios estudios una relación entre TS y el desarrollo de la vejiga natatoria (MacLennan;1992 y Foote;1985), mostrando valores distintos en los estadios iniciales desde la eclosión, agotamiento del saco vitalino, crecimiento de la larva y desarrollo de la vejiga natatoria.

1.1 Objetivos

Para controlar el desarrollo de los peces en tanques, generalmente se utilizan métodos directos mediante observaciones extractivas, lo que genera un efecto negativo en el desarrollo de los peces debido al estrés causado por la manipulación de los peces en el tanque, por lo cual, se han buscado nuevos métodos menos invasivos para poder monitorizar el desarrollo de los peces en tanques, algunas soluciones son mediante el uso de cámaras de video o con acústica activa.

Por lo que en esta investigación se propone utilizar métodos acústicos mediante transductores split- beam para caracterizar el desarrollo larvario en los estadios iniciales de larvas de doradas y atunes, con el fin de describir valores típicos de TS relacionados tanto a la longitud total de la larva definida como su longitud desde el inicio de la aleta caudal del pez hasta su boca, como el desarrollo de su vejiga natatoria.

III. Materiales y métodos

Para la obtención de datos biológicos y acústicos, se realizaron dos experimentos similares en tiempos distintos con larvas de doradas y atunes, las cuales son detalladas a continuación.

3.1 Experimento larvas de dorada

Muestreo biológico de larvas de doradas

El experimento se realizó en las instalaciones del centro de cultivos marinos de Mazarrón, pertenecientes al Instituto Español de Oceanografía (IEO) de Murcia, ubicada en el municipio de Mazarrón (Lat N: 37° 34' - Long O: 1° 13'). Donde se puso en marcha el proyecto el día 28 de abril del 2019 y finalizó el día 15 de mayo del 2019.

En un tanque de eclosión se depositaron huevos de dorada conseguidas de las jaulas de engorde ubicadas en alta mar, de las cuales se logró obtener un total de 200.000 larvas de doradas, siendo trasladadas en el DPH 1 (días posterior a la eclosión) a un tanque definitivo (G4) de 1.6 metros de alto y 2 metros de radio, con un flujo de agua de mar filtrada constantemente (766 litros por hora) hasta alcanzar una profundidad de 1.2m, esta en constante aireación mediante 5 aireadores distribuido en distintos puntos del tanque. Se expuso a un fotoperíodo de 20h de luz y 8h de oscuridad, con un régimen de alimentación basado en distintas proporciones de fitoplancton (*Tetraselmis suecica*, *Chlorella minutissima*) y rotíferos (*Brachionus plicatilis*) que se muestra en la Tabla 1. La superficie del estanque se

limpiaba diariamente Figura 4, para eliminar residuos flotantes sólidos, como los lípidos que interfieren en el desarrollo de la vejiga natatoria (Georgakopoulou, et al., 2010 y Kurata et al., 2012).

Tabla 1: Régimen de alimentos de larvas de doradas con respecto a su DPH. Los valores en blanco son días donde no se registró la cantidad.

DPH	Cantidad Rothiferos	Tetraselmis (L)
3	15x 10 ⁷	
4	10 x 10 ⁷	150
5	80 x 10 ⁶	150
6	94x 10 ⁶	150
7	80 x 10 ⁶	150
8	76 x 10 ⁶	150
9	92 x 10 ⁶	150
10	81 x 10 ⁶	150
11	66 x 10 ⁶	150
12	101 x 10 ⁶	150
13	99 x 10 ⁶	150
14	99.5 x 10 ⁶	150
15		150
16	93 x 10 ⁶	150

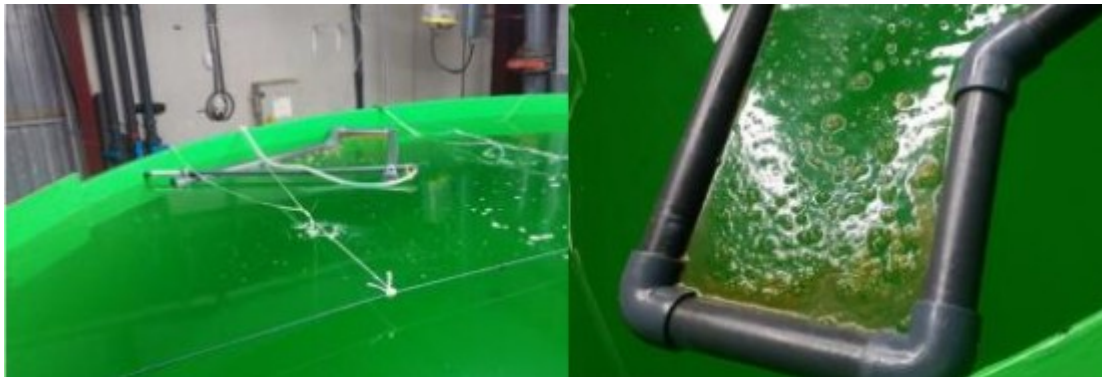


Figura 4: Dispositivo utilizado para la limpieza del tanque. (Fuente: Carrillo, 2017).

Para obtener los datos de longitud total de las larvas, se realizaron extracciones nocturnas de larvas de doradas a las horas mostradas en la Tabla 2. Las extracciones se realizaron con una manguera que retiraba directamente las larvas desde el estanque hasta obtener un volumen aproximado de 30l de agua con el fin de capturar un mínimo de 50 larvas necesarias para hacer las mediciones de longitud correspondientes. Posteriormente las larvas fueron traspasadas a un vaso precipitado de 5l, donde fueron cuantificadas, en el laboratorio con la ayuda de una pipeta se tomaba una a una las larvas de doradas

depositándolas en un portaobjetos con un par de gotas de agua de mar para obtener registro fotográfico mediante la lupa óptica Leica MS5 conectada a una cámara HD Leica S3, con el uso del software LAS123 se le media su longitud total (L. total) como se muestra en la Figura 5. En el caso de que la larva presentara la vejiga natatoria hinchada se media su diámetro (Φ). Luego generando un fichero de excel con las longitudes y el diámetro de las vejigas natatorias y guardando las imágenes con su metadatos en una carpeta del ordenador conectado en la lupa, obteniendo imágenes como las de la Figura 5. Cada una de las mediciones obtenidas se pueden observar en el anexo.

Tabla 2: Hora de toma de muestra por cada día posterior a la eclosión (DPH).

DPH	Hora toma de muestras
4	00:27
5	00:03
6	00:00
7	00:05
8	00:20
9	00:17
10	00:02
11	00:01
12	00:01
13	01:40
14	00:07
15	00:03
16	00:01
17	00:15

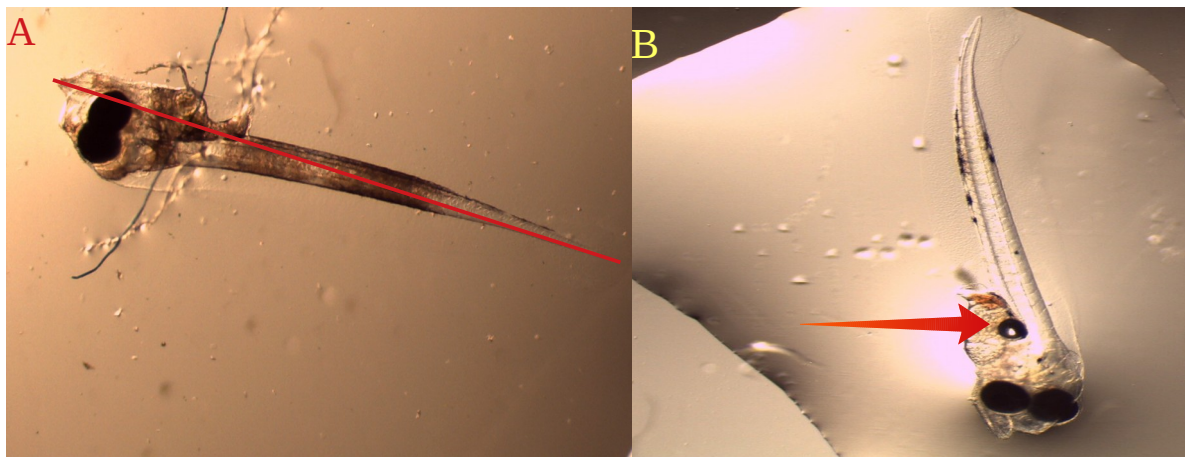


Figura 5: Imágenes de doradas obtenidas con lupa LEICA MS5, donde A corresponde a una larva de dorada del DPH 4 la línea roja representa la longitud total medida y B corresponde a una larva del DPH 12, la flecha roja apunta hacia la vejiga natatoria.

Medidas abióticas

Para el control de las condiciones abióticas como la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) que se midió con un termómetro Checktemp 1, salinidad (‰) medida con un refractómetro óptico de mano marca Atago, modelo S-10E y el oxígeno disuelto en mg/l (ppm) se utilizaron serie OxyGuard. Estos valores se obtenían con el fin de monitorizar las condiciones óptimas de crecimiento de las larvas como a su vez para ajustar los parámetros físicos para el óptimo funcionamiento de la toma de datos acústicos.



Figura 6: Herramientas utilizadas para medir oxígeno (A), Salinidad (B), Temperatura (C). (Fuente: Carrillo, 2017)

Metodología acústica de doradas

Instalación del sistema acústico

Para la obtención de los datos acústicos, se instaló un transductor Es 200-7C fijado a una superficie acrílica con pesos de plomo para dar estabilidad, el cual emite a un haz acústico de 200kHz y 7 grados de apertura a -3dB . Dicho haz está partido en 4 segmentos, lo que le permite calcular la distancia de un objeto y su posición con respecto al transductor, el transductor se conectaba mediante un cable a una ecosonda split-beam SIMRAD EK60 como se muestra en la Figura 7.

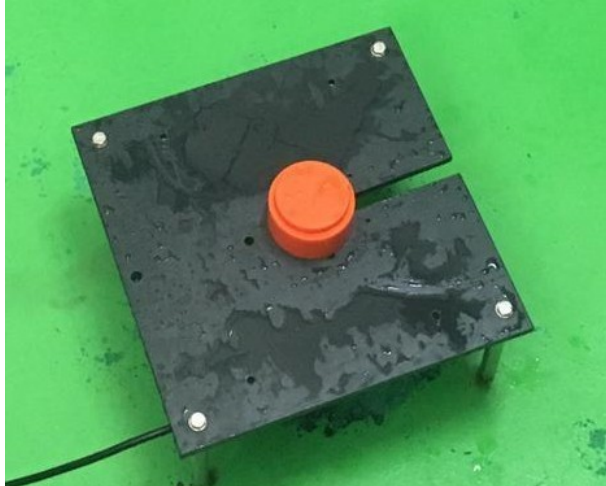


Figura 7: Instalación del transductor de 200 kHz un soporte fijo ubicado en la base de tanque G4.

La ecosonda con las características detalladas en la Tabla 3, estaba conectada tanto al troncal eléctrico, como a un ordenador y a la red mediante un cable de red conectado a Internet para su control remoto y un cable que cumplía la función de cable de tierra en los canales de agua de rebose Figura 8.

Tabla 3: Características de la ecosonda utilizado para obtener las mediciones en el tanque.

Apertura del haz	7°
Frecuencia de ping	1 por segundo
Potencia	45 W
Duración del pulso	64 μ s
Ancho de banda	18,76 kHz
Transductor	ES 200 – 7C



Figura 8: Sistema de ecosonda de 200 kHz completamente instalado y operando.

El transductor fue dispuesto de tal forma que formara un área circular aproximada de $0,019\text{m}^2$ en la superficie, dispuesto en una zona donde las burbujas de aire de los aireadores estuvieran a una distancia mayor y como se muestra en la Figura 9.

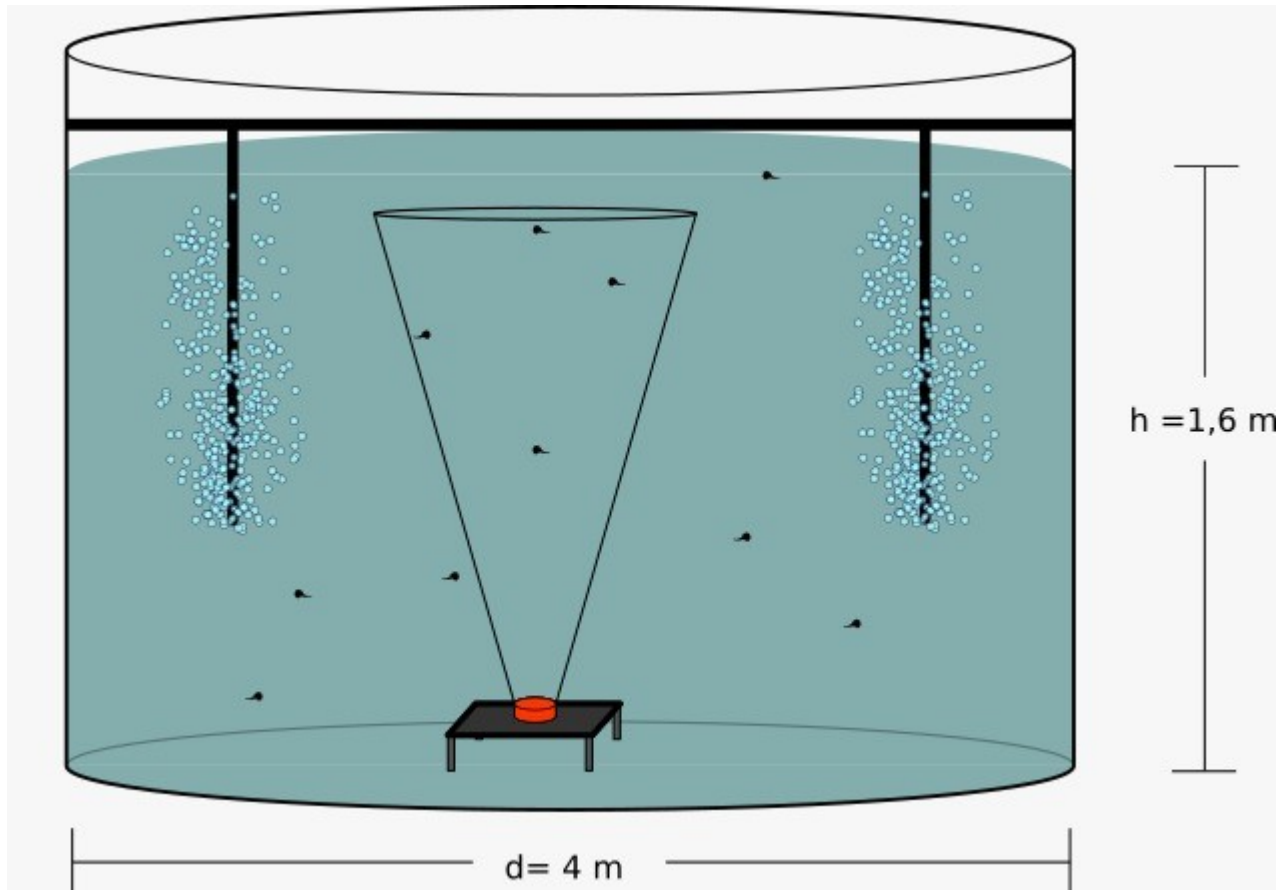


Figura 9: Esquema de la medida de la fuerza blanco con los transductores en el tanque G4 del Centro de Cultivos Marinos de Mazarrón.

Obtención de datos acústicos de doradas

Para la obtención de medidas control sin la interferencia de las burbujas de aire, se procedió a cortes de aire diurnos y nocturnos en los horarios mostrados en la Tabla 4. También para comparar el efecto que tiene las burbujas de aire generadas por los aireadores, se realizaron mediciones de 60min, dos horas antes de los cortes de aire mostrados en la Tabla 4.

Tabla 4: Horarios de cierre y apertura del flujo de aire en el día y la noche por DPH.

Día	DPH	Cierre aire	Apertura aire	Cierre aire	Apertura aire
02/05/19	4	Inicio	Inicio	11:24:12	12:24:20
03/05/19	5	00:24:24	01:24:10	12:40:32	13:40:10
04/05/19	6	00:10:40	01:10:45	12:00:30	13:00:50
05/05/19	7	00:19:35	01:23:20	11:50:50	12:58:20
06/05/19	8	00:28:08	02:40:11	12:04:34	13:07:34
07/05/19	9	00:24:00	01:27:00	01:21:53	12:21:00
08/05/19	10	00:01:35	01:01:50	12:00:20	13:01:24
09/05/19	11	00:04:14	01:14:38	11:57:25	12:57:06
10/05/19	12	00:02:16	01:02:30	12:00:10	13:00:20
11/05/19	13	01:56:35	02:56:56	11:50:13	12:55:20
12/05/19	14	00:12:20	01:15:58	11:32:00	12:35:20
13/05/19	15	00:09:05	00:13:45	11:37:05	12:39:53
14/05/19	16	00:06:11	01:07:37	11:36:22	12:48:33

3.2 Experimento larvas de atunes

Para el experimento de las larvas de atunes, se siguió una metodología similar a la de las larvas de doradas, las diferencias serán mencionadas en los siguientes apartados.

Muestreo biológico de larvas de atunes

Este experimento se realizó en las mismas instalaciones del IEO del municipio de Mazarrón y en el mismo tanque (G4), se iniciaron las mediciones del proyecto el día 28 de junio del 2019 y se terminaron el día 10 de julio del 2019.

En un tanque de eclosión se depositaron huevos de atún conseguidas de las jaulas de engorde ubicadas en alta mar, de las cuales se logró obtener un total de 300.000 larvas de atunes, siendo trasladadas a su tanque definitivo en el DPH 1. Se expuso a un fotoperíodo fue de 20h de luz y 8h de oscuridad, con un régimen de alimentación que se muestra en la Tabla 5. Se limpiaba la superficie del estanque una vez al día con el mismo instrumento de la Figura 4.

Tabla 5: régimen de alimentación para las larvas de atunes por DPH (los valores son redondeados)

DPH	Tetraselmis Atunes (L)	Rothiferos Atunes
3	100	80 x 10 ⁶
4	100	80 x 10 ⁶
5	100	40 x 10 ⁶
6	100	40 x 10 ⁶
7	100	40 x 10 ⁶
8	100	40 x 10 ⁶
9	100	40 x 10 ⁶
10	100	40 x 10 ⁶
11	100	40 x 10 ⁶
12	100	40 x 10 ⁶

Se realizaron dos mediciones diarias para obtener la longitud total de las larvas de atunes, una fue diurna y otra nocturna, como se muestra en la Tabla 6,

Tabla 6: Hora de toma de muestra por cada día posterior a la eclosión (DPH).

DPH	Hora de muestreo diurno	Hora de muestreo nocturno
2	16:00	23:58
3	16:01	23:58
4	16:25	00:10
5	16:10	00:12
6	15:55	00:15
7	15:50	23:55
8	15:53	00:01
9	15:54	23:58
10	15:50	23:56
11	18:09	23:57

Para medir las larvas se realizó el mismo método de extracción desde el tanque hasta el fotografiado de las larvas una por una. Obteniendo imágenes como el de la Figura 10.

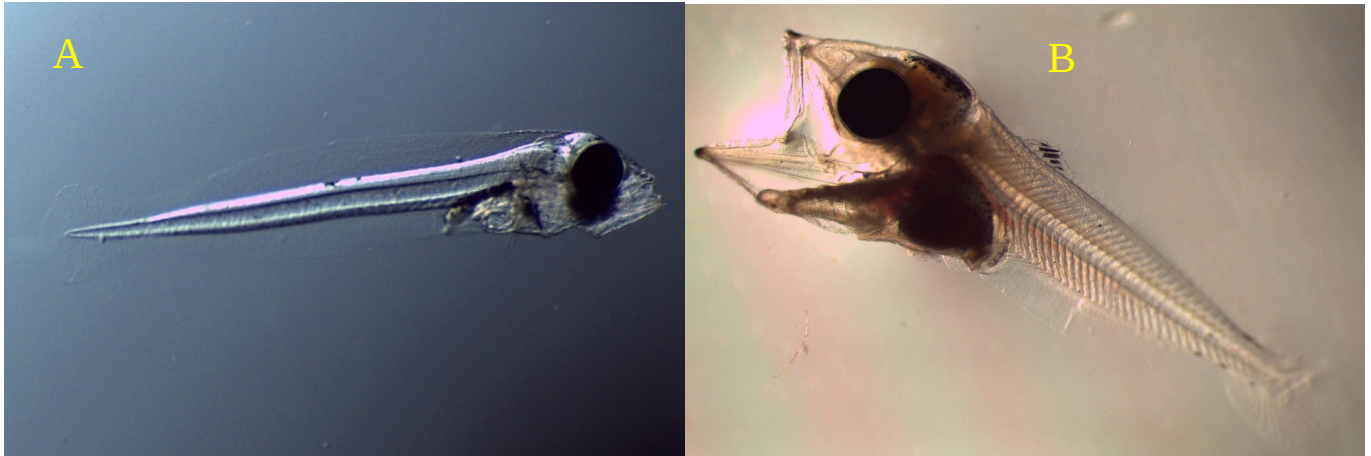


Figura 10: Imágenes de atunes obtenidas con lupa LEICA MS5, donde A corresponde a una larva de atún del DPH 3 y B corresponde a una larva del DPH 12.

Metodología acústica de atunes

En este experimento se utilizaron dos transductores junto con su correspondiente ecosonda. Un transductor ES200-7C emitiendo a 200 kHz conectado a una ecosonda SIMRAD EK60 y también se utilizó un transductor ES333-7C emitiendo a 333 kHz conectado a una ecosonda SIMRAD EK60, como se muestra en la Figura 11.

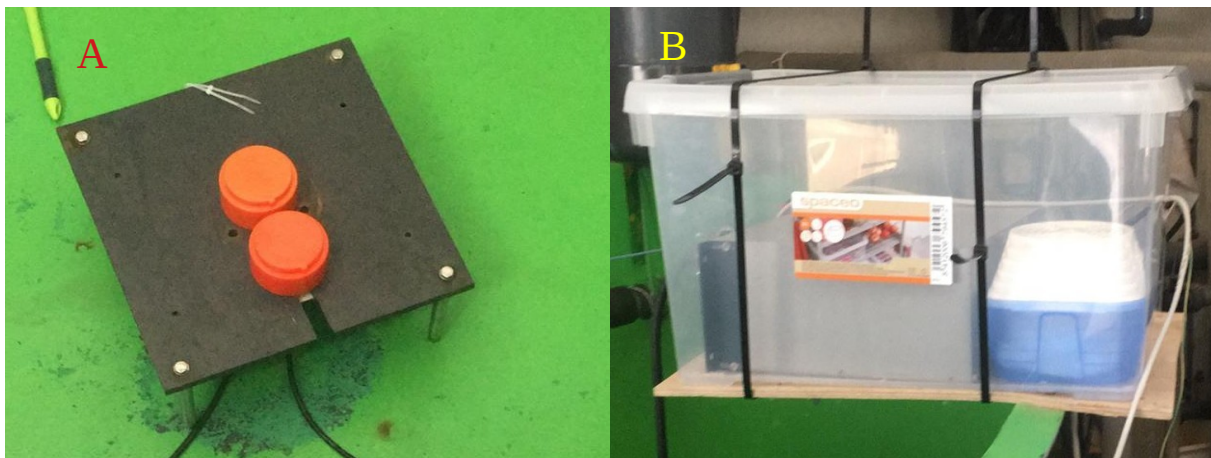


Figura 11: en A transductores instalados en superficie acrílica, en B una de las ecosondas utilizadas en el estudio en su caja de seguridad anti humedad.

Estas ecosondas al igual que en el experimento de doradas estaban conectadas tanto a la red como al troncar eléctrico como se muestra en la Figura 8.

En la tabla 7 se muestra las características de cada ecosonda respectiva para la obtención de datos con 200 kHz y 333 kHz.

Tabla 7: Características de la ecosonda utilizado para obtener las mediciones en el tanque.

Frecuencia	200 kHz	333 Khz
Apertura del haz	7°	7°
Frecuencia de ping	1 por segundo	1 por segundo
Potencia	45 W	45 W
Duración del pulso	64 µs	64 µs
Ancho de banda	18,76 kHz	18,76 kHz
Transductor	ES 200 – 7C	ES333-7C

Obtención de datos acústicos de atunes

Para obtener mediciones control sin la interferencia de burbujas de aire se procedió a hacer dos cortes diarios como se muestra en la Tabla 8. También para comparar el efecto que tiene las burbujas de aire generadas por los aireadores, se realizaron mediciones de 20 minutos, una hora antes de los cortes de aire mostrados en la Tabla 8.

Tabla 8: Horarios de cierre y apertura del flujo de aire en el día y la noche por DPH.

Fecha	DPH	Cierre aire	Apertura aire	Cierre aire	Apertura aire
29/06/19	2	16:09:02	16:28:40	00:04:01	00:23:57
30/06/19	3	16:09:01	16:28:55	0:04:03	00:23:55
01/07/19	4	16:35:00	16:54:54	00:17:00	00:36:58
02/07/19	5	16:20:10	16:40:57	00:19:05	00:39:58
03/07/19	6	16:05:00	16:24:56	00:20:10	00:39:57
04/07/19	7	16:01:03	16:20:55	00:05:05	00:26:58
05/07/19	8	16:03:00	16:23:58	00:13:06	00:35:57
06/07/19	9	16:04:02	16:25:57	00:08:00	00:28:59
07/07/19	10	16:00:07	16:23:59	00:05:08	00:24:56
08/07/19	11	18:19:10	18:38:57	05:17:03	05:36:58
09/07/19	12	16:41:15	17:01:59	00:05:06	00:24:56

Los datos fueron obtenidos con el mismo programa utilizado con las doradas y se generaron los mismos archivos .uuu y analizados con el programa Sonar5_pro y fueron almacenados en un archivo excel.

3.3 Análisis de datos

La información abiótica obtenida de las mediciones del tanque, fue ingresada en el software del proveedor de las ecosondas “SIKRAD ER60” para calcular la velocidad del sonido en el agua de mar, posterior a esta configuración se inició la grabación. Estas grabaciones se almacenaban en un formato .raw, por lo que fue necesaria la transformación de estos

ficheros a un formato .uuu, para que pueda ser procesado por el software Sonar5_pro, generando un ecograma SED (single echo detection) que integra los ecos que pertenecen a un mismo objeto para cada pulso de sonido. Los parámetros mostrados en la Tabla 9 se utilizaron para la integración de los ecos.

Tabla 9: Parámetros ingresados para análisis SED.

Largo máximo del eco	4.00
Tamaño mínimo del objetivo (dB)	-100
Tamaño máximo del objetivo (dB)	-50
ADT Max	0.50
Máxima ganancia (dB)	6.00

Con este ecograma SED se puede realizar un seguimiento y estimación de la biomasa en el rango de los primeros 20cm de profundidad para quedar fuera del campo cercano del transductor correspondiere a un metro. Se genera un ecograma como el que se observa en la Figura 12. Los valores de TS obtenidos en cada medición fueron almacenados en formato excel para su posterior análisis estadístico.

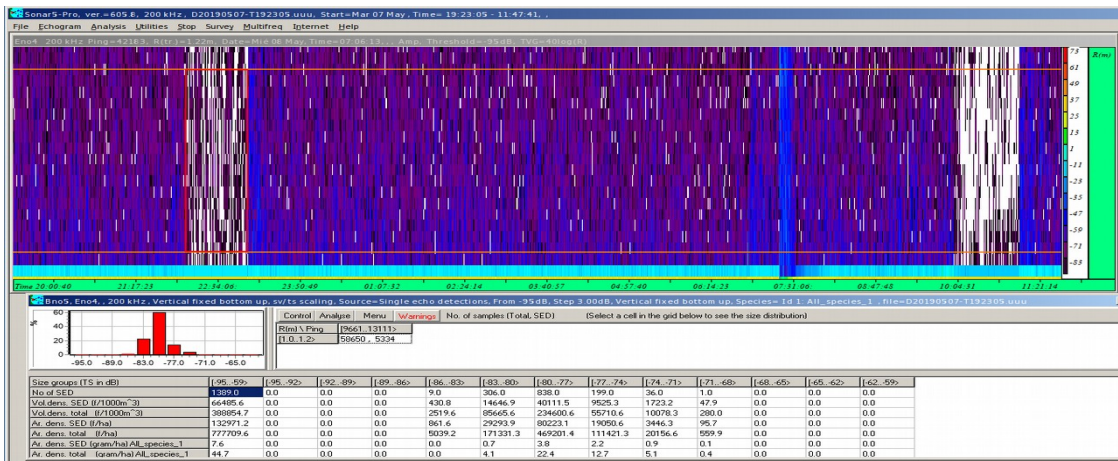


Figura 12: Visualización de un fichero .uuu en programa Sonar5_pro®, mostrando los momentos en los cuales se cortó el suministro de aire.

El análisis de datos obtenido de las mediciones biológicas como ecogramas de los archivos generados mediante el software Sonar5_pro, se realizó con el software R (3.4.4), utilizando las extensiones ggplot2 para generar las figuras y dplyr para una generar una forma más flexible de manipulas los datos en R. Se realizó un análisis de correlación de Pearson, entre longitudes promedio de cada DPH y de los valores medios de TS como también del diámetro de las vejigas natatorias y valores medios de TS. Se realizó un análisis ANOVA de dos factores con un nivel de significancia de 0.05, para comparar los valores de TS entre los grupos hipotéticos de vejigas hinchadas y no hinchadas como también comparar los valores de TS diurnos y nocturnos. Los supuestos de la normalidad y homocedasticidad se comprobaron con el test de Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) y el de Levene respectivamente.

IV. Resultados

Resultados abióticos

Las mediciones obtenidas de salinidad, oxígeno y temperatura en cada experimento se muestran en la Tabla 10. La falta de mediciones es debido a que no se registró el dato por ser fin de semana.

Tabla 10: Medidas abióticas de doradas y atunes a lo largo del experimento

DPH	T °C Doradas	SAT O2 ppm Doradas	Salinidad (‰) Doradas	T °C Atunes	SAT O2 ppm Atunes	Salinidad (‰) Atunes
3	19.6	7.7	37.4	25.4		37.3
4	18.3	7.2	37.5	25.6		37.5
5	19.3	7.6	37.2	25.3		37.1
6	19.3	6.7	37.5	25.7	6.3	37.4
7	19.1	7.1	37.5	25.8	6.3	37.4
8	19.9	6.9	37.5	25.8	6.6	37.5
9	20	6.8	37.6	26.1	8.5	37.5
10	20.3	6.6	37.3	26.5	6.3	37.4
11	20.3	6.7	37.1	26.3	6.3	37.3
12	20.5	6.7	37.3	26.3	6.2	37.5
13	20.8	6.5	37.5	Fin Exp	Fin Exp	Fin Exp
14	21	6.6	37.4			
15	20.5	6.5	37.3			
16	20.4	6.5	37.4			

Resultados larvas doradas

Resultados biológicos de larvas de doradas

Como se puede observar en la Figura 13, las larvas de doradas muestran un crecimiento a lo largo del experimento, el primer día de muestreo (DPH 4) la longitud total promedio fue de 3,8mm hasta el final del experimento (DPH 17) donde rondaban los 5,7mm y un hinchado de vejiga a partir del DPH 8 como se muestra en la Tabla 11, aumentando el porcentaje de vejigas hinchadas observadas de forma constante hasta llegar al 48%.

Tabla 11: Valores de longitud total (mm) y vejigas en los distintos DPH.

Día	DPH	Lt (mm)	Vejigas	% vejigas hinchadas
02/05/19	4	3,8	0/50	0
03/05/19	5	3.81	0/50	0
04/05/19	6	3.75	0/50	0
05/05/19	7	3.85	0/51	0
06/05/19	8	3.85	0/51	0
07/05/19	9	4.07	4/50	8
08/05/19	10	4.20	14/50	28
09/05/19	11	4.31	9/50	18
10/05/19	12	4.46	14/50	28
11/05/19	13	4.82	14/50	28
12/05/19	14	5.01	20/50	40
13/05/19	15	5.11	23/50	46
14/05/19	16	5.68	23/50	46

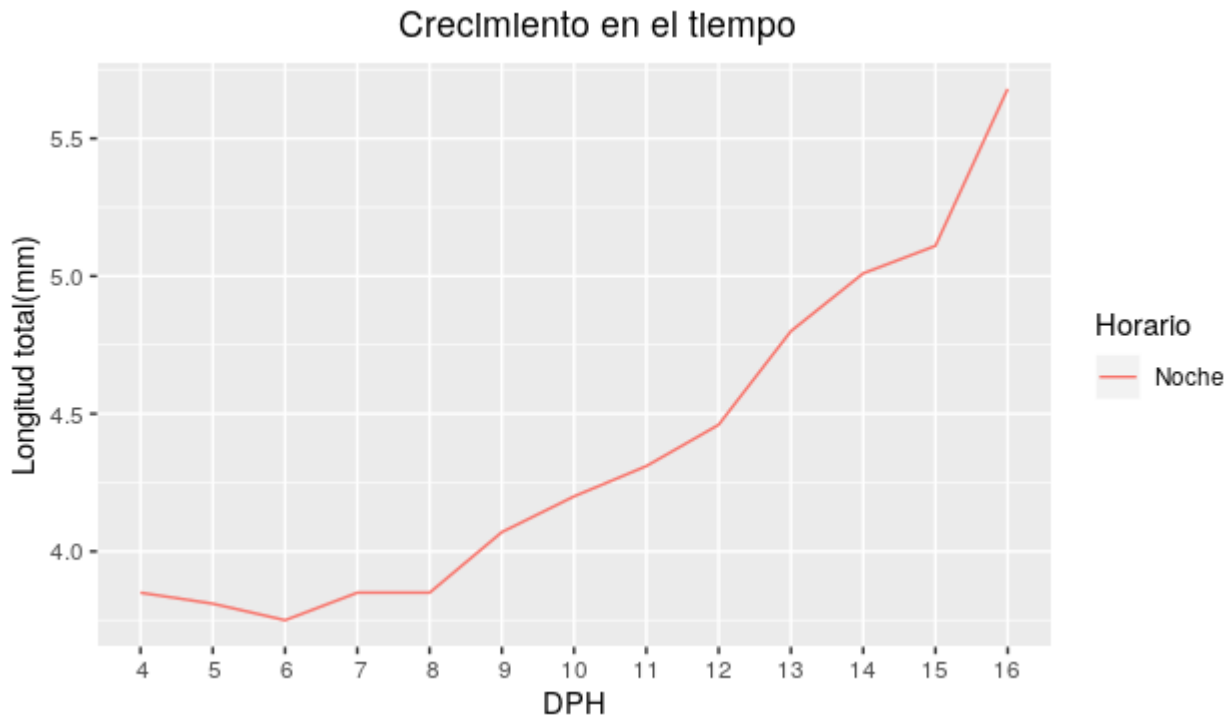


Figura 13: Promedio de la longitud de larvas de doradas en mm a lo largo del experimento.

Se puede observar un crecimiento en la longitud total de las larvas de doradas, esto apoyado por la biografía donde se explica que el crecimiento en los primeros 60 días posterior a la eclosión son lentos como también su aumento de peso corporal.

Como se muestra en la Tabla 12, el porcentaje de la vejiga natatoria con respecto a la longitud total es pequeña, pero aun así, desde su hinchado los valores de TS aumentan significativamente más.

Tabla12: Valores de longitud total (mm), promedio del diámetro Φ (mm) y su porcentaje con respecto a la Lt.

DPH	Lt (mm)	Promedio Φ (mm)	% Lt/ Φ
9	4.07	0.18	4.31
10	4.20	0.18	4.25
11	4.31	0.22	5.07
12	4.46	0.23	5.22
13	4.82	0.27	5.60
14	5.01	0.27	5.40
15	5.11	0.28	5.54
16	5.68	0.37	6.48
17	5.54	0.35	6.35

Resultados acústicos de larvas de doradas

Al calcular el promedio y mediana de TS en cada corte de aire mostrado en la Tabla 13 ,se puede observar una disminución constante pero no lineal como es en el caso del crecimiento, como se muestra en la Figura 14, se puede observar un cambio abrupto en las pendientes de los valores de TS desde el DPH 8, momento que corresponde al hinchado de la vejiga natatoria.

Tabla 13: valores de TS promedio y TS mediana en día y noche para cada DPH.

DPH	Promedio TS (dB) Día	Promedio TS (dB) Noche	Mediana TS (dB) día	Mediana TS (dB) noche
4	-83.47	-83.03	-83.45	-83.54
5	-84.03	-83.28	-84.64	-84.24
6	-85.27	-83.74	-85.60	-84.70
7	-81.09	-80.70	-81.06	-81.00
8	-83.07	-80.74	-83.31	-80.74
9	-82.60	-79.90	-81.98	-79.74
10	-81.36	-78.76	-81.12	-78.86
11	-78.37	-77.79	-78.66	-78.24
12	-74.49	-75.30	-74.19	-75.60
13	-71.57	-76.59	-71.34	-77.00
14	-72.16	-74.69	-72.06	-74.88
15	-73.36	-74.71	-73.17	-74.84
16	-71.96	-74.56	-71.62	-74.61

En la Figura 14 no se puede observar una diferencia clara entre los valores de TS de día y noche, pero se pueden observar dos pendientes distintas entre el DPH 4 hasta el DPH 8 y el DPH 9 al DPH 16 tanto en mediciones realizadas en momentos control y con el flujo de aire encendido.

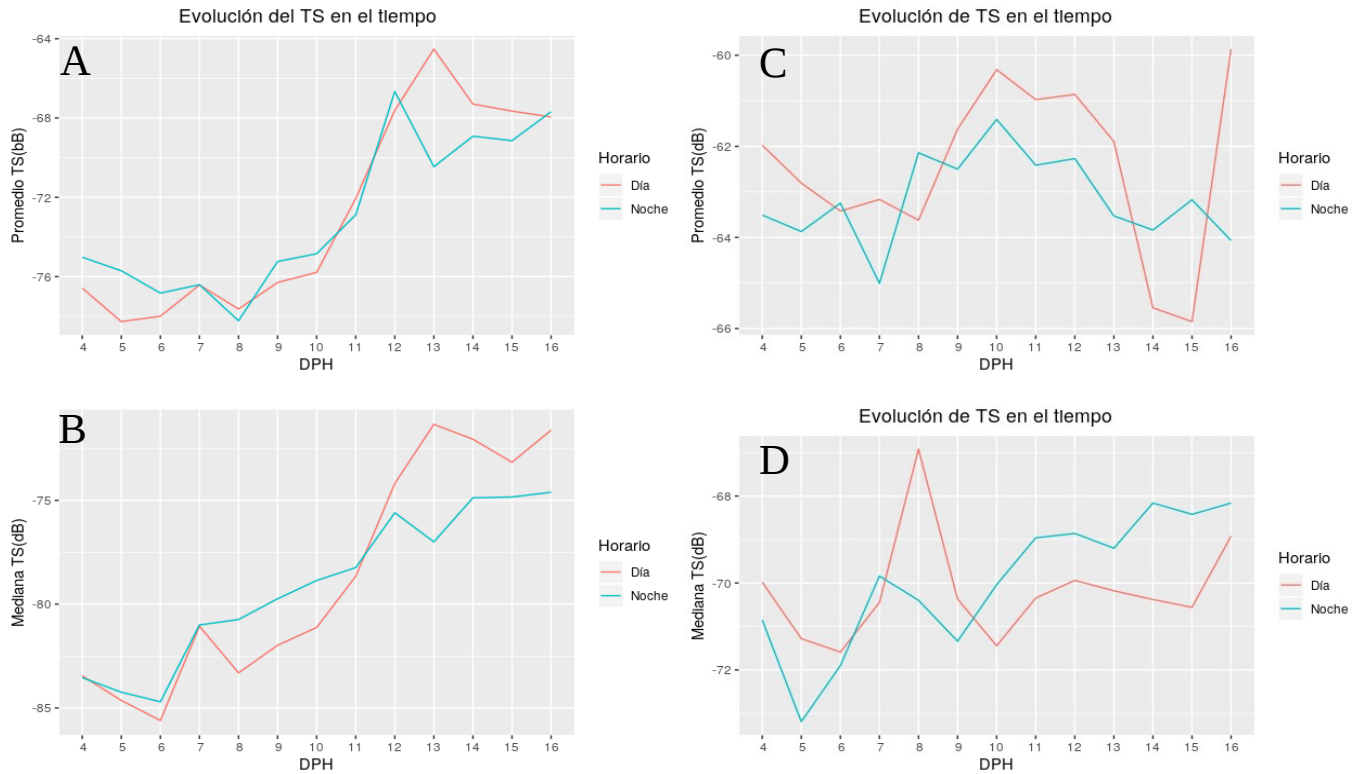


Figura 14: Evolución del promedios de aire y mediana de TS en día y noche sin flujo de aire A – B y con flujo de aire C-D a lo largo del tiempo en DPH.

En la Tabla 14 se muestran los valores del análisis ANOVA multifactorial, donde se puede observar una diferencia ($p < 0.05$) entre los horarios (día y noche) como también una diferencia significativa entre los grupos teóricos con la vejiga hinchada y sin hinchar, como se muestra en la Figura 15. En la prueba de normalidad de Lilliefors se determina que los datos no son normales ($p < 0.05$) y al realizar la prueba de homocedasticidad de Levene, se concluye que los datos son homocedásticos ($F = 0.5299$). Con estos resultados, el análisis ANOVA es viable ya que es muy robusto ante datos con una distribución no normal (Blanca, M. 2017).

Tabla 14: Resultados ANOVA multifactorial con un nivel de significancia del 95%.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Vejiga	1	75427	75427	4788.8	$< 2e-16$
Horario	1	4362	4362	276.95	$< 2e-16$
Vejiga:Horario	1	181	181	11.48	0.000707
Residual	14705	231615	16		

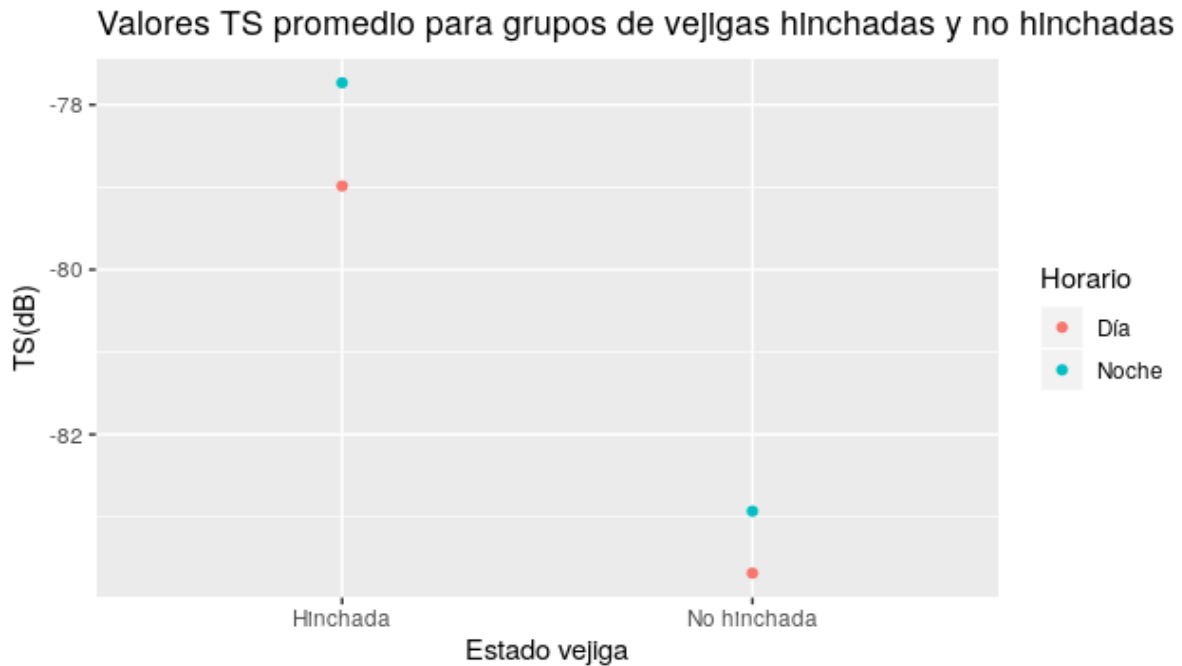


Figura 15: valores de TS de los distintos grupos de vejigas hinchadas y no hinchadas en las medidas diurnas y nocturnas.

Al realizar un análisis de correlación entre la longitud total y los valores promedio de TS de las mediciones nocturnas, se puede observar en la Figura 16 una gran correlación entre la longitud total y el TS medio, con un valor de $R^2 = 0.88$, a su vez al realizar el mismo análisis con la mediana, el valor de $R^2 = 0.90$, lo que quiere decir que a cambios de Lt (mm) hay un cambio en TS. Ambas correlaciones son significativas con valores de $p < 0.05$.

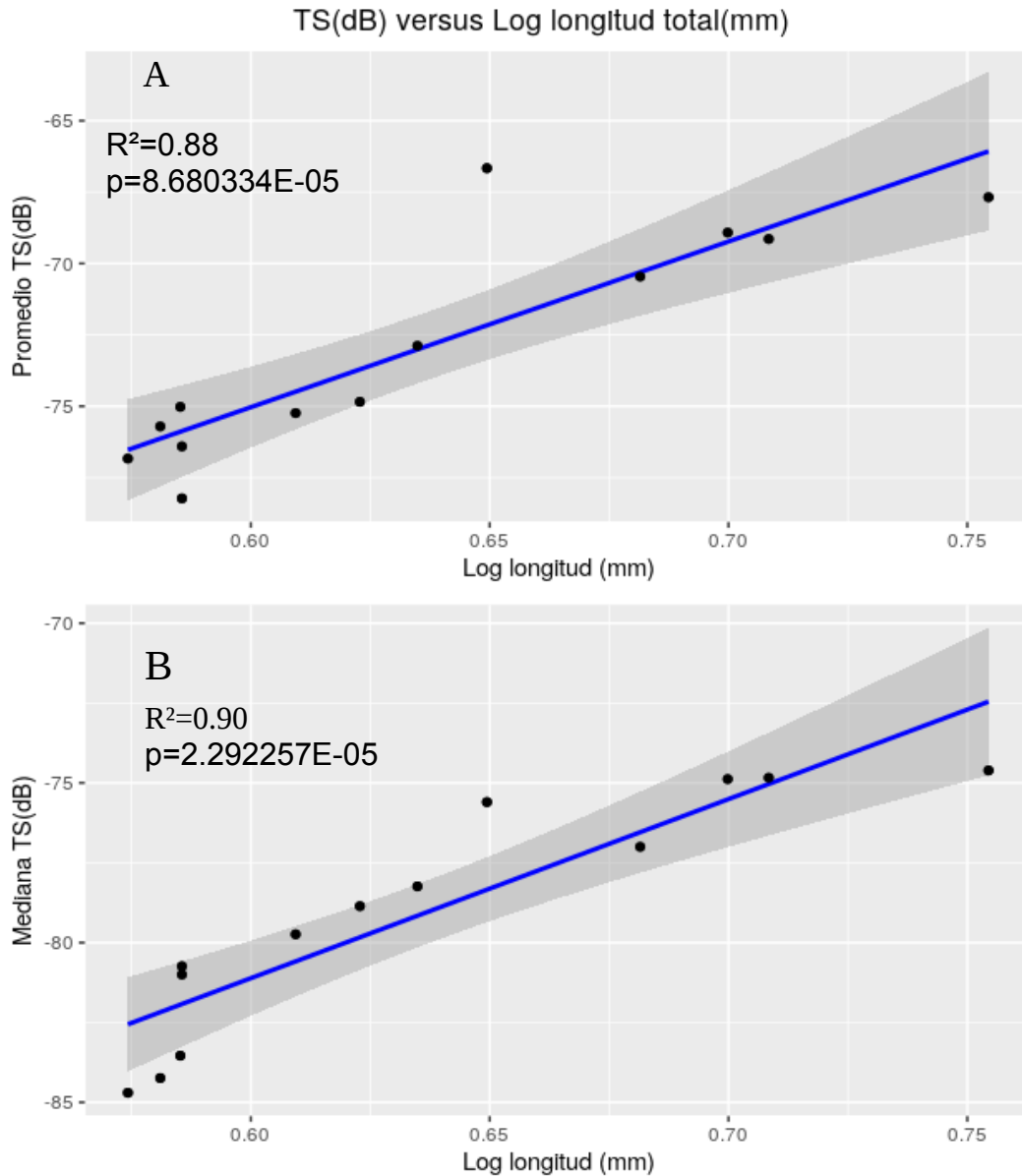


Figura 16: En A se muestra la relación entre el logaritmo base diez de la longitud promedio diaria (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.88$ y en B se muestra la relación entre el logaritmo base diez de la mediana de la longitud (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.90$.

Al realizar un análisis de correlación entre el diámetro de las vejigas natatorias y los valores del promedio y la mediana de TS nocturna, se puede observar una gran correlación entre el diámetro de la vejiga natatoria y los valores de TS. Como se muestra en la Figura 17, donde en cada análisis, los valores de R^2 superan 0.80.

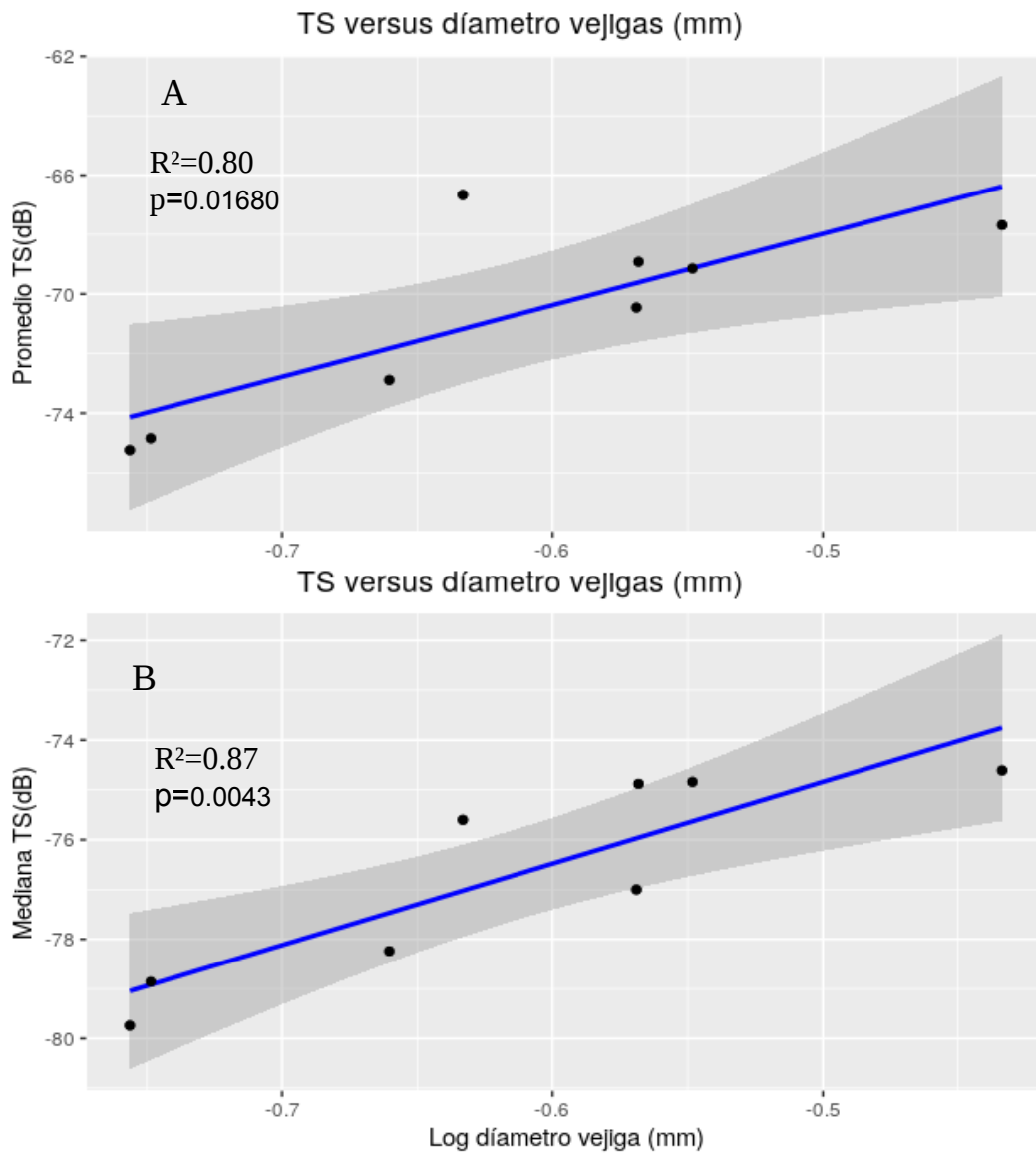


Figura 17: En A se muestra la relación entre el logaritmo base diez del diámetro de la vejiga natatoria (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.8$. En B la relación entre el logaritmo base diez de la mediana del diámetro de la vejiga natatoria (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.87$.

Resultados larvas de atunes

Resultados biológicos de larvas de atunes

Las larvas de atunes muestran una longitud total de 3.9 mm aproximadamente en el inicio del experimento, hasta alcanzar medidas cercanas a los 8 mm al finalizar el experimento, como

se muestra en la Tabla 15, en la Figura 18 tanto en las mediciones diurnas como nocturnas se observa un patrón de crecimiento constante. En este experimento, no se lograron capturar imágenes de atunes con la vejiga natatoria hinchada, ya que en ninguna de las extracciones se encontraron especímenes con la vejiga hinchada.

Tabla 15: Promedios del largo total a lo largo del tiempo del día y la noche.

DPH	Promedio Lt (mm) día	Promedio Lt (mm) noche
3		4.10
4	3.89	4.07
5	3.89	4.00
6	4.50	4.40
7	4.57	5.37
8	5.44	5.66
9	5.75	6.43
10	6.26	6.82
11	6.96	7.84
12		8.01

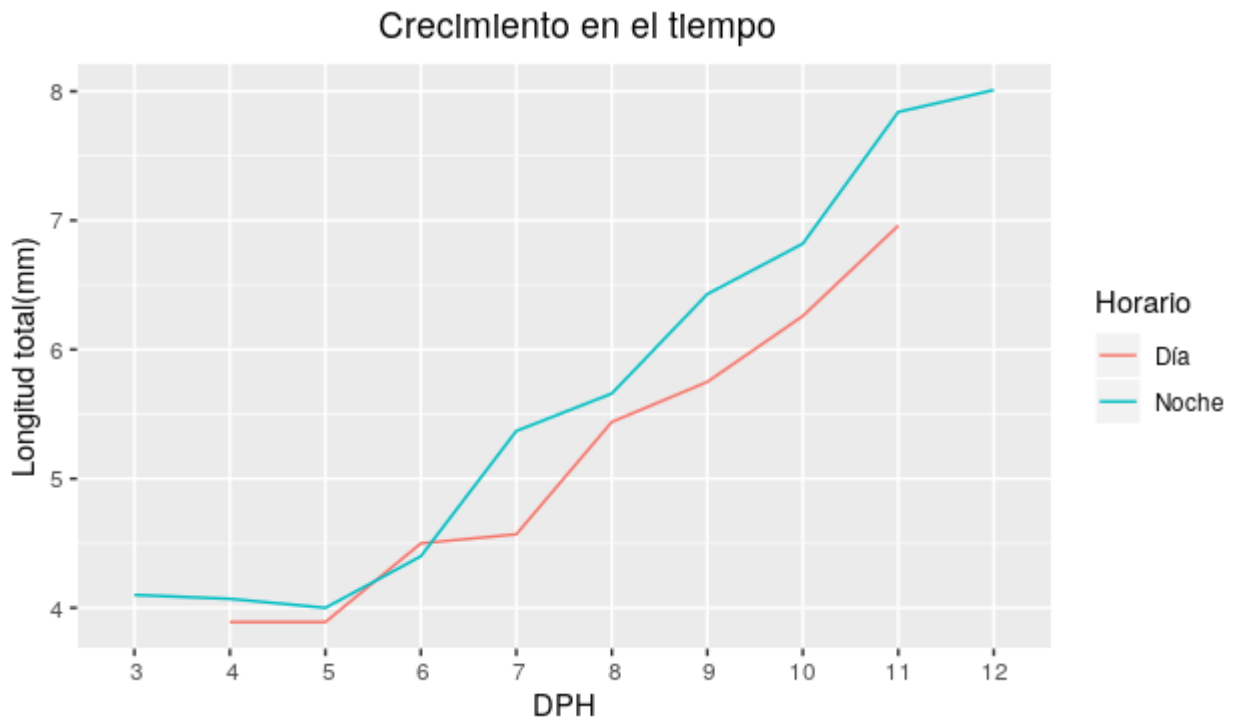


Figura 18: Promedio de longitud total (mm) de larvas de atún del día y la noche lo largo del experimento.

Resultados acústicos de larvas de atunes con ecosonda de 200 kHz

La mediana y el promedio de TS a lo largo del tiempo se puede observar en la Tabla 16 donde al igual que en las mediciones de larvas de doradas, se pueden realizar dos grupos teóricos apoyados por la bibliografía, los cuales son desde el DPH 3 hasta DPH6 correspondiente al grupo previo al hinchado de la vejiga natatoria y el grupo con la vejiga hinchada, que comienza en el DPH 7 y termina con el ultimo muestreo en el DPH 12. En la Figura 19, se puede observar la evolución de la mediana y el promedio de TS a lo largo del experimento. Mostrando más claramente en la Figura 18, la diferencia entre ambos grupos.

Tabla 16: Valores de promedio y mediana de TS (dB) en los distintos DPH nocturnos y diurnos.

DPH	Horario	Mediana TS (dB) día	Mediana TS (dB) noche	Promedio TS (dB) día	Promedio TS (dB) noche
3	Día	-80.70	-84.00	-77.98	-78.85
4	Día	-79.82	-85.30	-78.56	-78.49
5	Día	-82.90	-81.10	-78.60	-80.82
6	Día	-78.99	-78.88	-77.89	-78.88
7	Día	-78.30	-79.15	-75.17	-78.51
8	Día	-78.70	-78.90	-74.58	-75.00
9	Día	-80.60	-79.80	-74.28	-73.91
10	Día	-79.50	-77.50	-72.85	-73.33
11	Día	-79.20	-77.30	-75.39	-74.87
12	Día	-80.00	-76.35	-73.92	-74.32

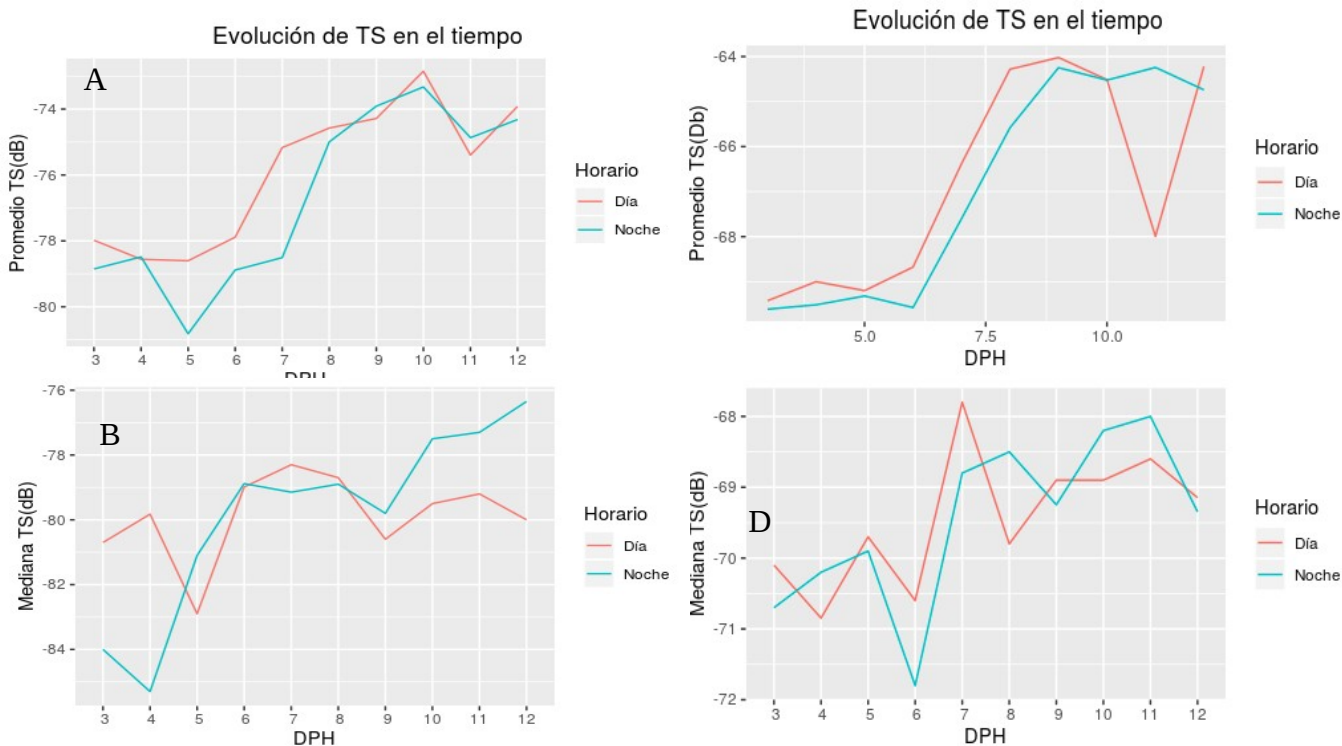


Figura 19: Evolución del promedios de aire y mediana de TS en día y noche sin flujo de aire A – B y con flujo de aire C-D a lo largo del tiempo en DPH.

En la Tabla 17 se muestran los valores del análisis ANOVA multifactorial, donde se puede observar que no existe una diferencia entre los horarios (día y noche), pero sí una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los grupos teóricos con la vejiga hinchada y sin hinchar, como se muestra en la Figura 20. En la prueba de normalidad de Lilliefors se determina que los datos no son normales ($p < 0.05$) y al realizar la prueba de homocedasticidad de Levene, se concluye que los datos son homocedásticos ($F = 0.1512$).

Tabla 17: Resultados ANOVA multifactorial con un nivel de significancia del 95%.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Vejiga	1	11839	11839	1663.945	< 2e-16
Horario	1	4	4	0.604	0.437
Vejiga:Horario	1	710	710	99.822	< 2e-16
Residual	2346	16692	7		

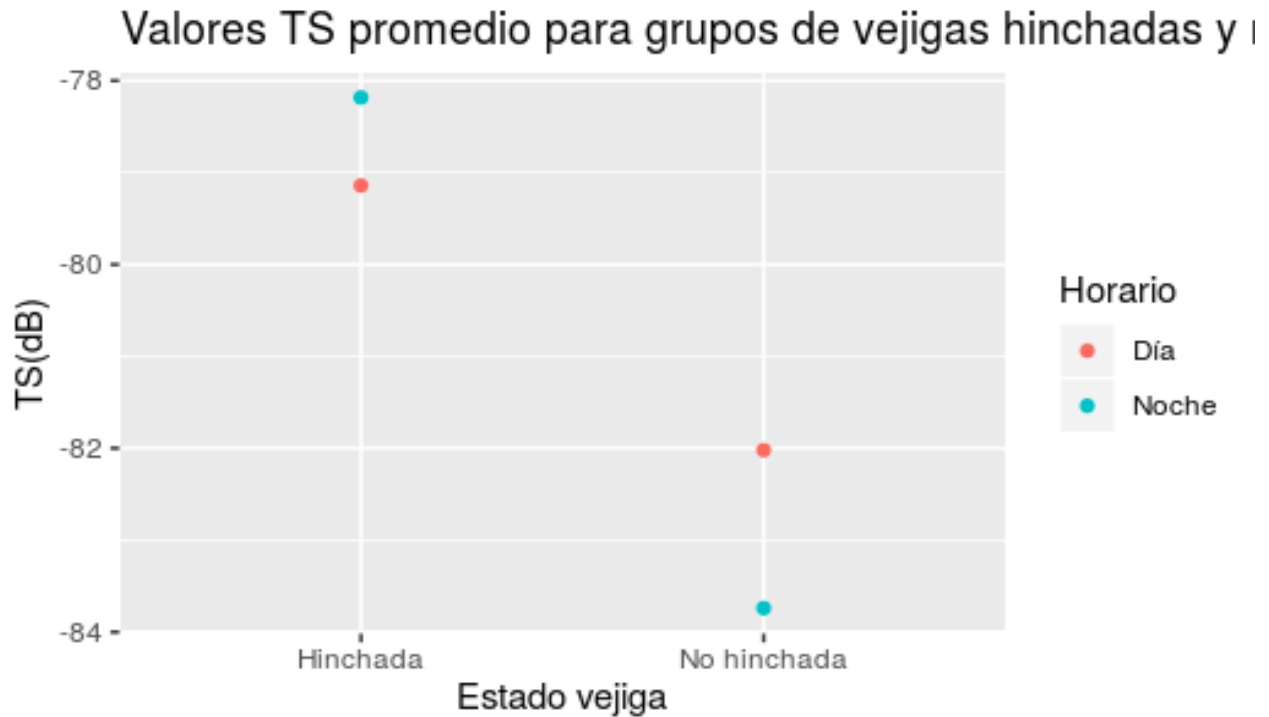


Figura 20: Valores de TS de los distintos grupos de vejigas hinchadas y no hinchadas en las medidas diurnas y nocturnas.

Al realizar un análisis de correlación entre la longitud total media nocturna y los valores de TS medios mostrado en la Figura 21 se puede observar una correlación levemente menor a la obtenida en el experimento de doradas, con valores de $R^2 = 0.88$ para la relación TS promedio longitud y 0.81 para la relación TS mediana con la longitud, lo que quiere decir que aparte de la variación de longitud, otros factores afectan las variaciones de TS en el tiempo. Ambas correlaciones son significativas con valores de $p < 0.05$.

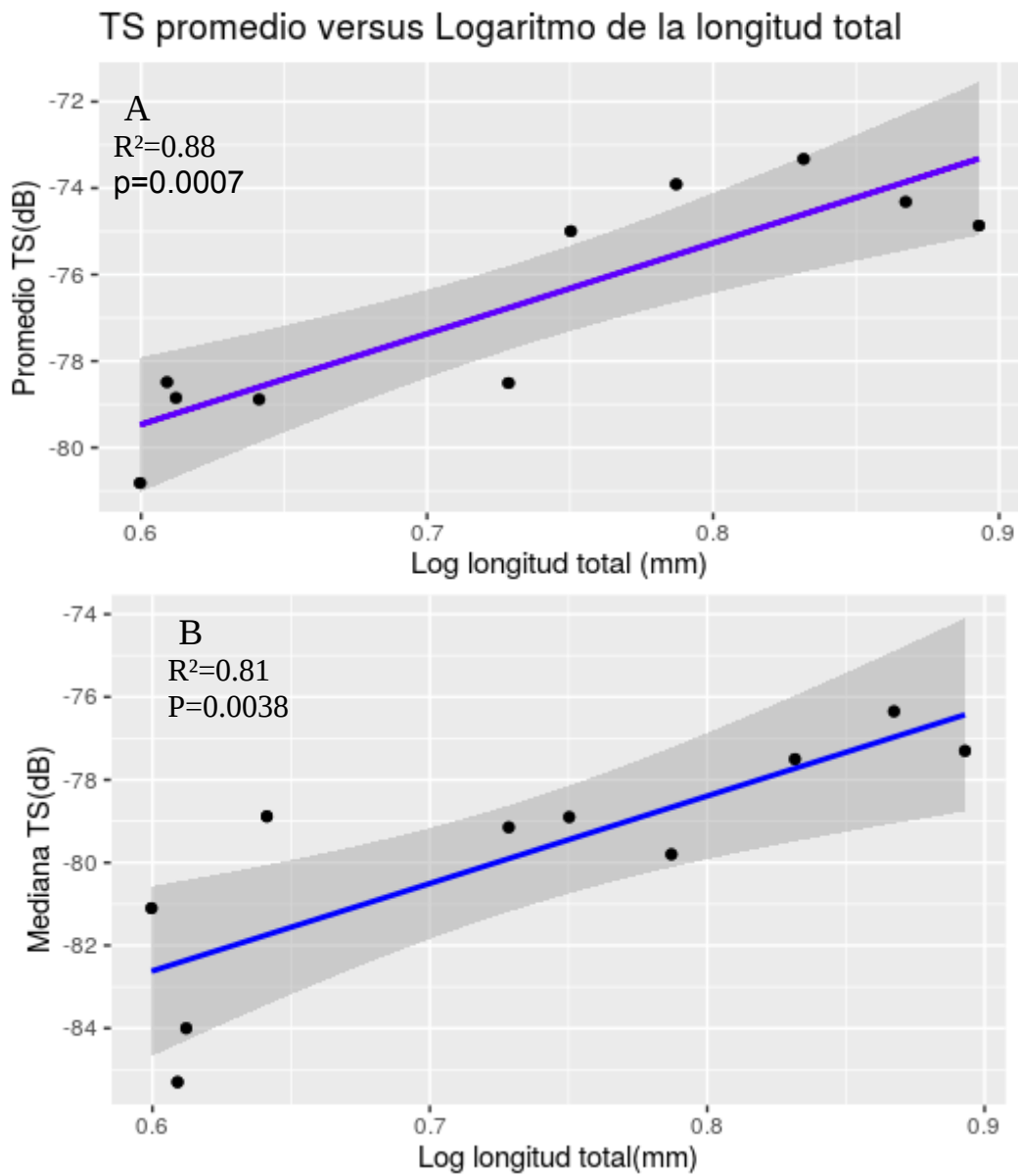


Figura 21: Relación entre el logaritmo base diez de la longitud promedio diaria (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.88$ (A). Relación entre el logaritmo base diez de la mediana de la longitud (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.81$.

Resultados de acústicos larvas de atunes con ecosonda de 333kHz

Como en los análisis acústicos de 200kHz se pueden observar los resultados del promedio y la mediana en la Tabla 18, donde también se pueden observar dos grupos correspondientes

a los días de la vejiga hinchada y no hinchada, se puede observar en la Figura 22 (A) que posterior al DPH 5 se ve un cambio en los valores de TS, al igual que en (B) donde se ve un cambio más marcado en las pendientes en el grupo de las mediciones nocturnas.

Tabla 18: Valores de promedio y mediana de TS (dB) en los distintos DPH nocturnos y diurnos.

DPH	Horario	Promedio (dB) TS día	Promedio TS (dB) noche	Mediana TS (dB) día	Mediana TS (dB) noche
3	Día	-75.03	-74.54	-77.85	-82.05
4	Día	-75.62	-75.01	-77.40	-79.00
5	Día	-76.56	-75.70	-79.40	-77.90
6	Día	-72.84	-74.07	-79.30	-79.09
7	Día	-70.22	-72.61	-80.20	-78.19
8	Día	-69.24	-71.24	-76.90	-79.75
9	Día	-74.96	-74.05	-78.60	-76.30
10	Día	-71.15	-69.65	-79.95	-72.60
11	Día	-72.88	-69.05	-77.60	-69.10
12	Día	-66.85	-68.50	-76.65	-69.30

Al realizar un análisis de correlación del la longitud total (mm) con los valores promedio de TS (dB) (A) y mediana de TS (dB) (B), se puede observar en la Figura 21 un aumento en la correlación en comparación a los resultados la Figura 16, mostrando que al realizar este análisis con los valores de la mediana, R^2 es mayor en ambos casos y expliando poco más de la mitad de la varianza de TS es debida a la longitud total.

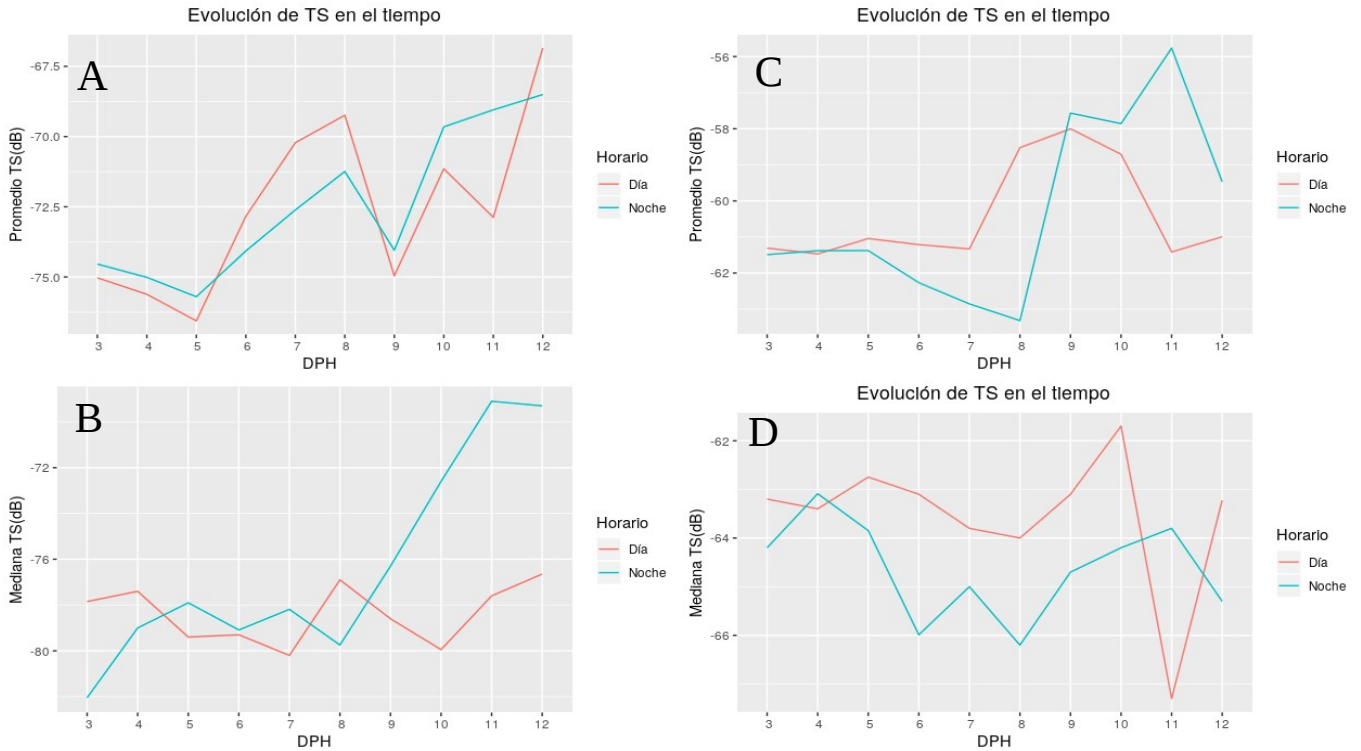


Figura 22: Evolución del promedios de aire y mediana de TS en día y noche sin flujo de aire A – B y con flujo de aire C-D a lo largo del tiempo en DPH.

En la Tabla 19 se muestran los valores del análisis ANOVA multifactorial, donde se puede observar una diferencia entre los horarios (día y noche) como también una diferencia significativa entre los grupos teóricos con la vejiga hinchada y sin hinchar, como se muestra en la Figura 23. En la prueba de normalidad de Lilliefors se determina que los datos no son normales y al realizar la prueba de homocedasticidad de Levene, se concluye que los datos son homocedásticos ($F=0.6703$).

Tabla 19: Resultados ANOVA multifactorial con un nivel de significancia del 95%.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Vejiga	1	2552	2552.2	100.034	< 2e-16
Horario	1	240	239.5	9.387	0.00222
Vejiga:Horario	1	687	687.1	26.931	2.35E-07
Residuals	1788	45618	25.5		



Figura 23: Valores de TS de los distintos grupos de vejigas hinchadas y no hinchadas en las medidas diurnas y nocturnas.

Al realizar un análisis de correlación entre la longitud total media nocturna y los valores de TS medios mostrado en la Figura 24 se puede observar una correlación menos a la obtenida en el experimento de doradas, con valores de $R^2 = 0.91$ para la relación TS promedio - longitud y 0.75 para la relación TS mediana con la longitud, lo que quiere decir que aparte de la variación de longitud, otros factores afectan las variaciones de TS en el tiempo. Ambas correlaciones son significativas con valores de $p < 0.05$.

TS promedio versus Logaritmo de la longitud total

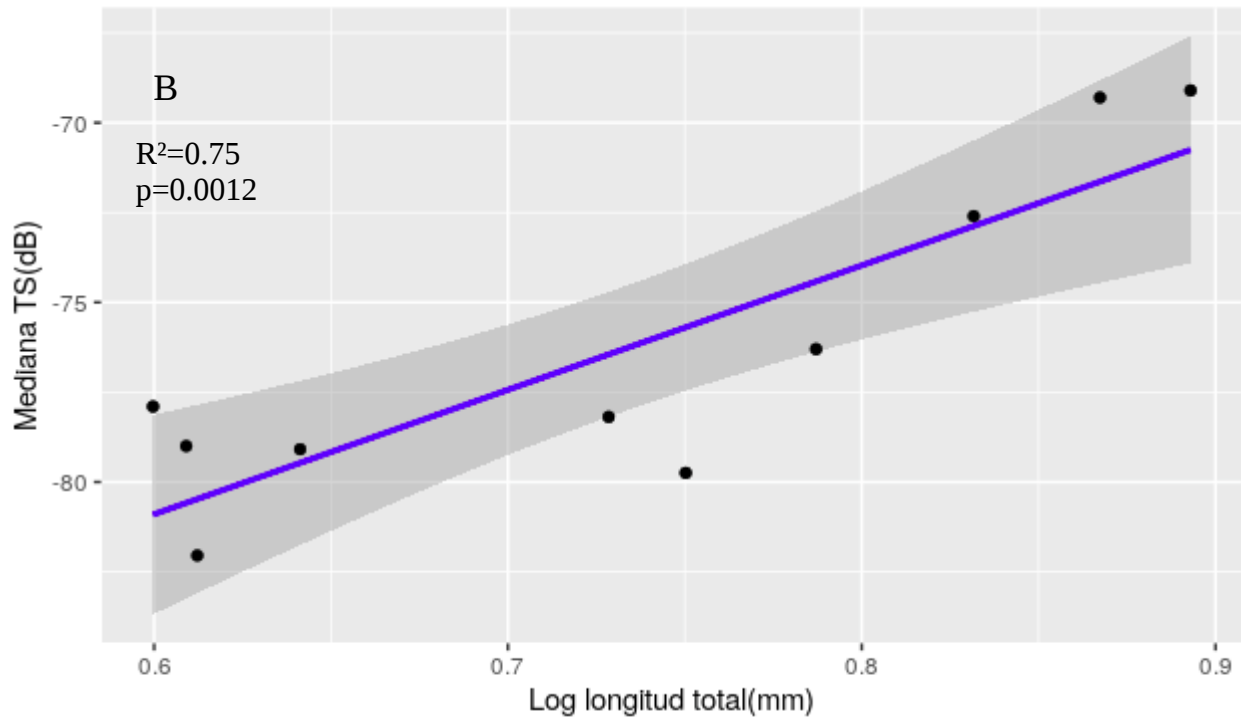
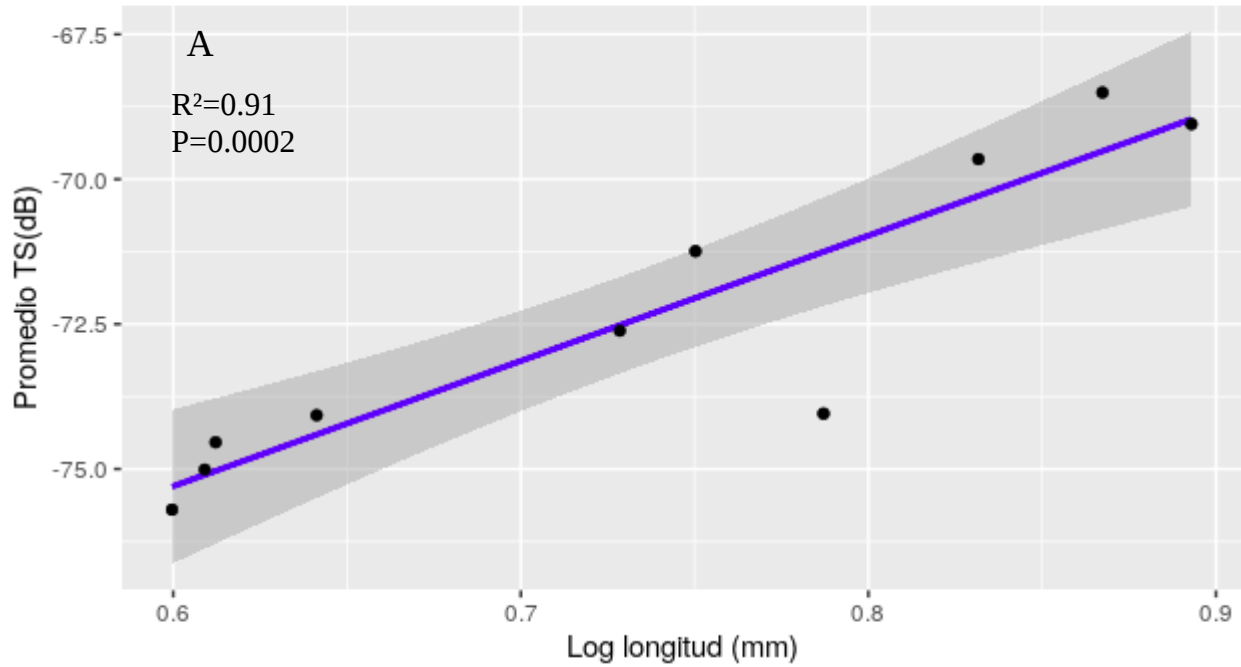


Figura 24: Relación entre el logaritmo base diez de la longitud promedio diaria (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.91$ (A). Relación entre el logaritmo base diez de la mediana de la longitud (mm) y el TS (dB), con $R^2 = 0.75$.

Discusión

Doradas

Se puede observar un aumento tanto en la longitud total de las larvas de doradas en el tiempo, como a su vez un hinchado de la vejiga natatoria en el DPH 9, mostrando un aumento en su tamaño en el tiempo. Los valores del promedio y de la mediana de TS a lo largo del tiempo, muestran al igual que las medidas biológicas, un aumento a lo largo del tiempo como a su vez un cambio en la pendiente en el DPH 8 correspondiente al hinchado de la vejiga. Al realizar un análisis de correlación, entre las medidas biológicas y el promedio y mediana de TS, se obtienen valores de R^2 suficientes para relacionar las variaciones de TS tanto con el crecimiento de las larvas como a su vez con el hinchado y crecimiento de la vejiga natatoria. Al poder analizar estos datos con una medida control de una hora, también se ha podido demostrar que las variaciones de la mediana y el promedio de TS a lo largo del tiempo se ven más marcadas cuando se suprime el efecto de las burbujas generadas por los aireadores.

Con este experimento, se ha podido demostrar que las ecosondas científicas son un instrumento útil a la hora de analizar el desarrollo desde temprana edad de los peces que habitan la columna de agua. Se recomienda que a futuro, este experimento se realice en un tiempo más prolongado y en un número mayor de tanques, ya que al hacer solo mediciones en un solo tanque se pueden generar errores debido al mal funcionamiento o a la estocasticidad intrínseca del desarrollo de un ser vivo.

Atunes

En este experimento se pudo observar un crecimiento constante de las larvas de atunes, pero en ningún momento se pudo observar en ninguna muestra obtenida una vejiga natatoria hinchada, esto puede ser causado por una metodología incorrecta debido a la sensibilidad de estas larvas al momento de ser manipuladas. Contrastando esta falta de vejigas observadas, se puede observar un aumento en el promedio y la mediana de TS en a lo largo del tiempo, mostrando un cambio de pendiente en el DPH 6. Aunque este cambio de pendiente no es tan clara como en el experimento de las larvas de doradas, se debe destacar que no se pudo medir un control tan prolongado como el de una hora, debido a que estas larvas son más sensibles a la falta de oxígeno por periodos de tiempo más largos. Al relacionar los valores de la longitud con los valores de la mediana y promedio de TS, se obtiene un valor de R^2 altos, lo que permite inferir que hay una relación entre la longitud de la larva con respecto a sus valores de TS. A su vez se implementó por primera vez un transductor con una frecuencia de 333 kHz, la cual permite obtener un análisis con una más alta definición acústica, se demostró que también es útil al momento de querer analizar las variaciones de TS en el tiempo.

Se recomienda que en futuros experimentos se desarrolle una metodología distinta al momento de realizar el muestreo biológico para así evitar un posible deshinchado de la vejiga natatoria en las larvas, también se recomienda realizar este experimento en más de un tanque a la vez y con distintos tiempos de cortes de aire control y de fotoperíodos ya que se ha logrado determinar que en peces que presentan vejiga natatoria, el efecto del fotoperíodo como de la intensidad lumínica afectan al momento de hinchar la vejiga natatoria (Partridge et al, 2011), esto debido a una respuesta biológica de varios tipos de larvas de peces con respecto a la luz y su régimen migratorio vertical.

Bibliografía

- Asociación Empresarial de Acuicultura de España, (2019), La acuicultura en España 2019, España, <http://www.apomar.es/content/la-acuicultura-en-espaa%C3%B1a-2019>.
- Blanca, M., Alarcón, R., Arnau, J., Bono, R., & Bendayan, R. (2017). Non-normal data: Is ANOVA still a valid option?. *Psicothema*, 29(4), 552-557.
- Craig, R. E., & Forbes, S. T. (1969). Design of a sonar for fish counting.
- Foote, K. G. (1985). Rather-high-frequency sound scattering by swimbladdered fish. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 78(2), 688-700.
- Georgakopoulou, E., Katharios, P., Divanach, P., & Koumoundouros, G. (2010). Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 308(1-2), 13-19.
- Kaji, T., Tanaka, M., Takahashi, Y., Oka, M., & Ishibashi, N. (1996). Preliminary observations on development of Pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Scombridae) larvae reared in the laboratory, with special reference to the digestive system. *Marine and Freshwater Research*, 47(2), 261-269.
- Kitajima, C., Iwamoto, H., & Fujita, S. (1977). Relation between curvature of vertebral column and hatchery-reared undeveloped swimbladder in red sea bream, *Pagrus major*. *Bull. Nagasaki Pref. Inst. Fish*, 3, 23-32.
- Kurata, M., Seoka, M., Nakagawa, Y., Ishibashi, Y., Kumai, H., & Sawada, Y. (2012). Promotion of initial swimbladder inflation in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel), larvae. *Aquaculture Research*, 43(9), 1296-1305.
- LA, CONTRIBUCIÓN A.; LA, ALIMENTARIA Y.; TODOS, NUTRICIÓN PARA. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. ROMA: FAO, 2016.

- Ley 3/2001, de 26 de marzo (Ref. [BOE-A-2001-6008](#)).
- Lurton, X. 2004. An Introduction to Underwater Acoustics. Principles and applications. Springer – Praxis Books in Geophysical Sciences. 347 pag.
- Partridge, G. J., Benetti, D. D., Stieglitz, J. D., Hutapea, J., McIntyre, A., Chen, B., ... & Scholey, V. P. (2011). The effect of a 24-hour photoperiod on the survival, growth and swim bladder inflation of pre-flexion yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) larvae. *Aquaculture*, 318(3-4), 471-474.
- ORTEGA, A. (2008). Cultivo de Dorada. *Sparus aurata*. España, Madrid. JACUMAR.