



## MASTER INTERUNIVERSITARIO EN ACUICULTURA

### **Memoria de prácticas realizadas en el Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina de Castilla y León**



Trabajo fin de Máster  
Valencia, Septiembre 2012  
**Víctor García Herranz**

Director:  
Miguel Jover Cerdá



# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>I</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>III</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Descripción del Centro .....</b>	<b>2</b>
1.1 Objetivo general y Líneas de investigación del Centro. ....	2
1.2 Equipo técnico/investigador .....	4
1.3 Descripción de los principales espacios y elementos.....	5
1.4 Abastecimiento-SRA y acondicionamiento del agua.....	17
1.5 Maduración del biofiltro .....	22
1.6 Transporte de los animales .....	23
1.7 Alimentación.....	24
1.8 Cultivos auxiliares.....	25
1.9 Control sanitario y tratamiento de patologías .....	27
1.10 Limpieza y mantenimiento de las instalaciones.....	29
1.11 Proyectos desarrollados en el Centro .....	31
1.12 Situación actual .....	39
<b>2. Actividades realizadas .....</b>	<b>41</b>
2.1 Labores rutinarias.....	41
2.2 Participación en proyectos desarrollados en el Centro.....	45
2.3 Actividades puntuales.....	59
2.4 Visitas a otros Centros de Investigación y empresas .....	60
<b>3. Posibles mejoras.....</b>	<b>61</b>
<b>4. Valoración personal.....</b>	<b>66</b>
<b>5. Bibliografía.....</b>	<b>69</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema general del recinto.....	2
<b>Figura 2.</b> Pozo de dilución.....	6
<b>Figura 3.</b> Caseta del pozo. ....	6
<b>Figura 4.</b> Tanque de O <sub>2</sub> líquido. ....	7
<b>Figura 5.</b> Nave almacén.....	7
<b>Figura 6.</b> Esquema general de la Zona de Instalaciones experimentales. ....	8
<b>Figura 7.</b> Esquema general de la distribución de las Salas de experimentación. ....	9
<b>Figura 8.</b> Salas de experimentación I. ....	10
<b>Figura 9.</b> Salas de experimentación II.....	10
<b>Figura 10.</b> Sala de cultivos auxiliares. ....	11
<b>Figura 11.</b> Sala de pretratamiento. ....	12
<b>Figura 12.</b> Laboratorio general. ....	14
<b>Figura 13.</b> Cabina de flujo laminar. ....	15
<b>Figura 14.</b> Laboratorio químico.....	15
<b>Figura 15.</b> Zona de oficinas. ....	16
<b>Figura 16.</b> Diagrama general del Sistema Abastecimiento-SRA-Vertido. ....	17
<b>Figura 17.</b> Esquema Sala de pretratamiento.....	19
<b>Figura 18.</b> Esquema del circuito del SRA en las Salas de experimentación.....	20
<b>Figura 19.</b> Diagrama del vertido de aguas.....	21
<b>Figura 20.</b> Vista superior del biofiltro.....	22
<b>Figura 21.</b> Tanque isotérmico para el transporte. ....	23
<b>Figura 22.</b> Alimentación.....	24
<b>Figura 23.</b> Fitoplancton. ....	25
<b>Figura 24.</b> Producción de daphnia. ....	26
<b>Figura 25.</b> Hoja de control de los parámetros físico-químicos del tanque de daphnia. .	26
<b>Figura 26.</b> Artemia. ....	27
<b>Figura 27.</b> Daños ocasionados por la infección no esclarecida en dorada.....	28
<b>Figura 28.</b> Tareas de limpieza y mantenimiento diarias y semanales.....	30
<b>Figura 29.</b> Tareas de limpieza mensuales. ....	30
<b>Figura 30.</b> Tenca. ....	32

<b>Figura 31.</b> Esquema de la distribución final de las diferentes dietas experimentales en las Salas 2 y 3. ....	37
<b>Figura 32.</b> Esquema de la distribución final de las diferentes densidades en la Sala 5. ....	39
<b>Figura 33.</b> Vista general de la fachada principal del Centro. ....	40
<b>Figura 34.</b> Limpieza del Tanque de compensación. ....	42
<b>Figura 35.</b> Sala 3. Evolución de los parámetros del agua (agua salada). ....	44
<b>Figura 36.</b> Sala 3. Evolución de los compuestos del N en el agua. ....	44
<b>Figura 37.</b> Sala 5. Evolución de los parámetros del agua (agua dulce). ....	44
<b>Figura 38.</b> Sala 5. Evolución de los compuestos del N en el agua. ....	45
<b>Figura 39.</b> Chlorella. ....	46
<b>Figura 40.</b> Colocación de las botellas de cultivo en la Sala de Cultivos auxiliares. ....	47
<b>Figura 41.</b> Medida de la turbidez del agua de los tanques de daphnia. ....	48
<b>Figura 42.</b> Imagen a la lupa en la que pueden apreciarse los diferentes rangos de edad. ....	49
<b>Figura 43.</b> Población de daphnia. Evolución del número total de individuos y porcentaje poblacional que supone cada rango de edad. ....	50
<b>Figura 44.</b> Eclosión de artemia. ....	51
<b>Figura 45.</b> Fecundación artificial de tenca. ....	53
<b>Figura 46.</b> Doradas en el tanque de sedación durante uno de los muestreos. ....	54
<b>Figura 47.</b> Registro del muestreo de doradas. ....	55
<b>Figura 48.</b> Comparación de la evolución del peso de los animales en función del tratamiento recibido. ....	56
<b>Figura 49.</b> Truchas arco-iris de uno de los tanques de la Sala 5. ....	57
<b>Figura 50.</b> Procesado de las muestras obtenidas en los muestreos de trucha. ....	58
<b>Figura 51.</b> Imagen de uno de los estanques de trucha de la piscifactoría IPEASA. ....	60
<b>Figura 52.</b> Detalle de los arcos de PVC que sostienen las redes antiescapes. ....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Calendario del control del fotoperiodo en la reproducción artificial de tenca .33	
<b>Tabla 2.</b> Comparación de los valores registrados en el mes de julio con sus óptimos en la producción de daphnia.....	48



## **Introducción**

El Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina pertenece al Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Itacyl), adscrito a la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León.

Inaugurado en enero del 2011 y en activo desde abril de ese mismo año, nació con el objetivo de aprovechar el potencial de este sector en la Comunidad, apoyar tecnológicamente a sus empresas y convertirse en uno de los centros de referencia a nivel nacional en I+D+i acuícola. Algunas de estas empresas dispuestas a colaborar en proyectos de investigación en acuicultura son: Dibaq-Diproteg (Segovia), Tencas Casaseca (Zamora), Alevines del Moncayo (Soria), Ipeasa (Segovia), Atrugal (Galicia), Kiluea Consulting (Tarragona) y Aquaconsultant (Huelva).

La estancia en el Centro para realizar las prácticas correspondientes al Máster Interuniversitario de Acuicultura tuvo lugar desde el mes de junio al mes de agosto. A pesar de que la actividad en el mismo se inició recientemente, ya se encontraban en marcha o próximos a iniciarse algunos experimentos, basados tanto en especies marinas como en dulceacuícolas. Este hecho permitió, además de la intervención en las tareas diarias de limpieza y mantenimiento, la colaboración en los trabajos de investigación que se estaban llevando a cabo en ese momento.

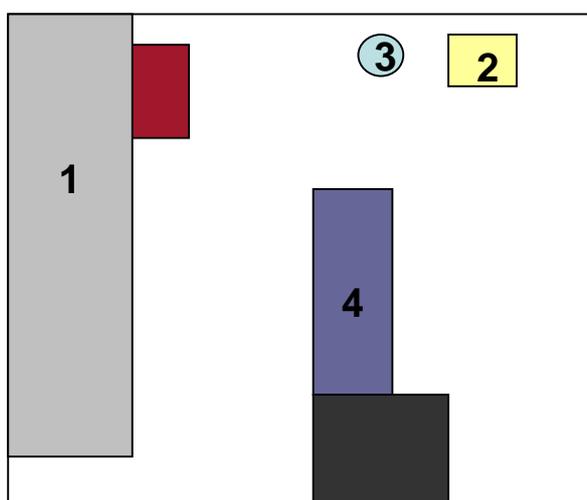
Sin embargo, debido a la larga duración de los experimentos por un lado y a la confidencialidad por otro, no podrán presentarse muchos de los datos correspondientes a los mismos, bien porque aún no habían sido generados, bien por el secreto industrial. Este mismo principio de confidencialidad es aplicado en diferente grado para los diferentes proyectos, por lo que la cantidad de información que puede ser presentada diferirá considerablemente de unos proyectos a otros.

Así pues, en las siguientes páginas se describirá la experiencia que ha supuesto la realización de las prácticas en este Centro, desde su descripción y funcionamiento, hasta las tareas desempeñadas y las posibles mejoras aplicables, basadas en los conocimientos obtenidos durante el Máster y los aportados por el trabajo realizado diariamente en sus instalaciones.

# 1. Descripción del Centro

El Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina-Itacyl se trata de un centro moderno y automatizado, capaz de operar en circuito cerrado al estar dotado de un Sistema de Recirculación para la Acuicultura (SRA).

Ubicado en la Carretera de Arévalo, término municipal de Zamarramala (Segovia), ocupa una parcela de aproximadamente 5000 m<sup>2</sup>. En ella, se levantan el edificio principal de 2380 m<sup>2</sup> distribuidos en dos plantas, una pequeña construcción que alberga diferentes equipos de medición y bombeo, la estructura donde se aloja el tanque de oxígeno (O<sub>2</sub>) líquido y una nave almacén. En el subsuelo de esta parcela se encuentran el Pozo de abastecimiento y el Pozo de dilución, en el que se recogen todos los efluentes generados en el Centro.



*Figura 1. Esquema general del recinto. 1) Edificio principal; 2) Caseta Pozo; 3) Tanque de O<sub>2</sub> líquido; 4) Nave almacén.*

## 1.1 Objetivo general y Líneas de investigación del Centro.

El objetivo general por el que fue creado este Centro es el de apoyar tecnológicamente y transferir sus resultados al sector acuícola de Castilla y León, desarrollando proyectos de investigación aplicada con la finalidad de aumentar la competitividad de este sector en la Comunidad. De forma complementaria a esta tarea, la prestación de servicios de asistencia técnica, el asesoramiento y la realización de actividades de formación y divulgación, serán otro de los pilares de dicho Centro.

Las Líneas de Investigación definidas de acuerdo con la Estrategia de Investigación de I+D+i “Dinamizando el sector agroalimentario a través de la innovación” 2010-2013, son las siguientes:

1. Desarrollo y evaluación de nuevos sistemas y dietas:
  - a) Evaluación de nuevas materias primas para la alimentación animal y nuevos ingredientes para enriquecer los piensos tradicionales. Estudio de la potencialidad de subproductos generados de la industria agroalimentaria como nuevos ingredientes en los piensos para especies acuícolas.
  - b) Estudio de nuevos sistemas de alimentación y dietas así como la evaluación de su efecto en la calidad de la carne y en el rendimiento productivo.
  
2. Sistemas de manejo y bienestar animal:
  - a) Evaluación del bienestar animal mediante indicadores de estrés y su relación con la calidad y la producción.
  - b) Domesticación de nuevas especies
  - c) Prevención de patologías mediante el uso de prebióticos, probióticos y otros compuestos naturales.
  
3. Genética y reproducción animal:
  - a) Conocimiento de la fisiología de la reproducción animal para la mejora de la eficiencia reproductiva.
  - b) Aplicación de nuevas técnicas de reproducción.
  
4. Reducción del impacto ambiental y desarrollo sostenible:
  - a) Reducción de los residuos generados en las piscifactorías a través de la mejora en el aprovechamiento del alimento.
  - b) Reducción del consumo energético y de agua en las instalaciones acuícolas.

## **1.2 Equipo técnico/investigador**

A pesar de que la dotación inicial de personal asignada al Centro era de 10 trabajadores, actualmente la plantilla está constituida por tres personas:

Director del Centro y técnico/investigador: Se trata de un veterinario de formación que desempeña la labor de dirección, gestión y administración del Centro compaginándola con las tareas de cuidado y mantenimiento de los animales (alimentación, limpieza de las salas de cría/experimentación, control sanitario...) e investigación desarrolladas en el Centro.

Técnico/Investigador: Biólogo y tecnólogo de alimentos que además de cumplir con su trabajo de investigación, colabora en las tareas de cuidado y mantenimiento de los animales.

Estas dos personas en colaboración son las encargadas de diseñar y llevar a cabo todos los experimentos abordados en el Centro. Además, también se encargan de definir y poner a punto todos los sistemas necesarios (cultivos auxiliares, criaderos, especies modelo...) para cumplir los objetivos de los trabajos asociados a las diferentes líneas de investigación.

Técnico de laboratorio: Técnico superior y analista de laboratorio que se encarga de realizar los análisis microbiológicos y físico-químicos del agua y de mantener y calibrar las sondas que controlan estos parámetros de forma continua y automatizada en cada una de las salas de experimentación. Al igual que en los casos anteriores también desempeña tareas de cuidado y mantenimiento animal.

Además de estas tres personas, tres veces por semana y en días alternos, acude al Centro un técnico de mantenimiento perteneciente al Itacyl. Este oficial de mantenimiento se encarga de realizar el mantenimiento y reparar todo el material y equipamiento con los que cuenta el Centro, además de instalar, mejorar e incluso construir los sistemas necesarios para desarrollar la tarea investigadora (sistema de cría larvaria, de producción y cría de cultivos auxiliares...).

De igual forma, el Centro puede contar con la incorporación de becarios durante breves periodos de tiempo (de 2 a 6 meses), los cuales se adaptan al ritmo de trabajo que se esté desarrollando en ese momento, colaborando tanto en tareas de cuidado y mantenimiento como a nivel investigador.

La organización diaria del trabajo, de acuerdo con la cualificación profesional del personal, es aproximadamente la siguiente:

A primera hora de la mañana, el técnico de laboratorio registra los datos de temperatura y humedad ambiental de las diferentes salas que se encuentren operativas, así como los niveles del tanque de O<sub>2</sub> líquido y otros datos de la Caseta del pozo. Después toma muestras de agua de cada una de las salas para elaborar los pertinentes análisis de aguas (físico-químico a diario y biológico semanal). Mientras el técnico de laboratorio desempeña estas tareas, los técnicos/investigadores preparan los equipos y el material necesario para poder realizar los muestreos o experimentos que se encuentran en marcha y que estaban programados para ese día, revisan el estado de los cultivos auxiliares que se mantienen en la sala habilitada al efecto, realizan búsquedas de información, organizan documentos y archivos, redactan los Protocolos Normalizados de Trabajo (PNTs) o registran y actualizan los datos generados en la jornada anterior. Tras ello, se procede a la limpieza y mantenimiento de cada una de las salas, trabajo en el que intervienen todos los integrantes de la plantilla, teniendo cada uno una sala asignada de la cual es responsable. Una vez limpias las salas se llevan a cabo los muestreos o experimentos de ese día, realizando a continuación, si fuera oportuno, el procesamiento o el análisis de las muestras. Al final del día, el director del Centro se ocupa de los asuntos de gestión y administración del mismo.

El último día de cada semana todos los miembros del equipo se reúnen para organizar el trabajo de la semana siguiente.

### **1.3 Descripción de los principales espacios y elementos**

Como ya se comentó anteriormente, en el subsuelo de la parcela en la que está ubicado el Centro se encuentran:

#### *Pozo de abastecimiento*

Se trata de un pozo de agua dulce excavado en la propia parcela y que capta agua de un acuífero localizado en la misma, ya que su temperatura se mantiene constante a lo largo de todo el año (17-18 °C).

### *Pozo de dilución*

Posee una capacidad de 21.500 L y en él se recogen todos los efluentes generados en el Centro, los cuales son vertidos posteriormente en la red de alcantarillado de Segovia. Para controlar las condiciones de ese vertido cuenta con una sonda de pH y otra de conductividad, permitiendo así realizar un seguimiento de los mismos y operar en consecuencia para cumplir los requerimientos de vertidos de agua residual establecidos por la EDAR de Segovia (pH 7-8 y conductividad 1 mS/cm).



**Figura 2.** Pozo de dilución.

Sobre la superficie de la parcela se levantan las siguientes construcciones:

### *Caseta del pozo*

En esta construcción se aloja la bomba que transfiere el agua desde el Pozo de abastecimiento al Centro, o en su defecto, al Pozo de dilución. También se encuentran en ella los monitores de las sondas de pH y conductividad del Pozo de dilución.



**Figura 3.** Caseta del pozo. A) Bomba del Pozo de abastecimiento; B) Panel de sondas de pH y de conductividad del Pozo de dilución.

### *Estructura y tanque de O<sub>2</sub> líquido*

Junto a la caseta del pozo, al aire libre y bajo las condiciones de seguridad adecuadas, se encuentra el tanque de O<sub>2</sub> líquido, con todo el equipamiento y sistemas de control relacionados con el mismo.



**Figura 4.** Tanque de O<sub>2</sub> líquido.

### *Nave almacén*

En frente del edificio principal se encuentra una gran nave que funciona como almacén de diferentes equipos y materiales empleados en el Centro, como la sal marina, tanques de fibra de vidrio, tuberías de PVC, limpiadoras de agua a presión...



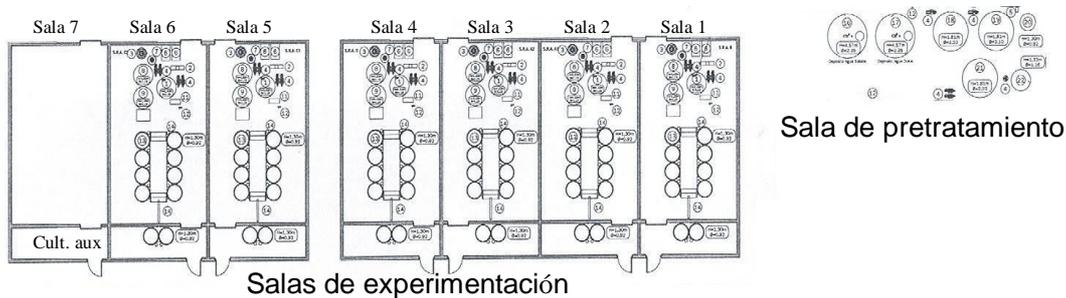
**Figura 5.** Nave almacén

## *Edificio principal*

Dentro del edificio principal se pueden distinguir tres zonas:

### 1) Zona de Instalaciones experimentales.

Ideada para el desarrollo de ensayos con peces vivos de agua dulce y/o salada, está compuesta por 7 salas independientes altamente automatizadas y dotadas todas ellas con SRA, en las cuales se crían y mantienen los animales objeto de investigación y experimentación. Además, aneja a la última de estas 7 salas (Sala 7) se encuentra la Sala de cultivos auxiliares donde se produce tanto fitoplancton como zooplancton.



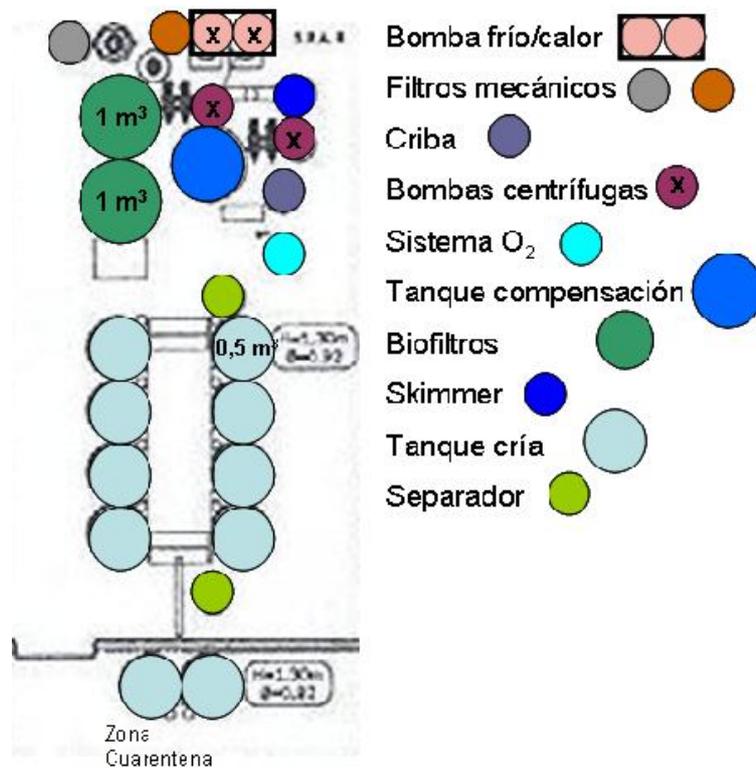
**Figura 6.** Esquema general de la Zona de Instalaciones experimentales.

### - Salas de experimentación

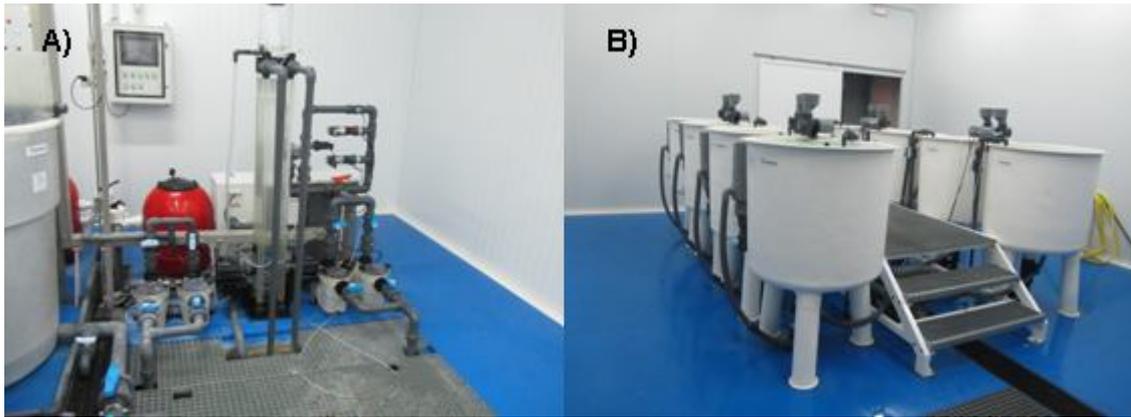
Dentro de cada sala se puede encontrar el siguiente equipamiento:

- 10 tanques circulares de fibra de vidrio de 500 L de capacidad (2 de ellos en la zona de cuarentena).
- Tanque circular de compensación de 750 L.
- Skimmer o espumador de proteínas de aproximadamente 50 L de capacidad.
- Sistema de aclimatación del agua o bomba de frío/calor con un rango térmico de 16 °C mínimo a 43 °C máximo.
- 2 filtros mecánicos, uno de arena y uno de carbón activo de 50 kg (0,4-0,8 mm  $\phi$ ) y 50 m<sup>3</sup>/h de velocidad de filtración.
- 2 filtros biológicos de percolación de 1000 L de capacidad con biobolas plásticas de aproximadamente 1 cm de diámetro.
- 4 bombas centrífugas autoaspirantes de 0,55 kW de potencia.

- Un alimentador mecánico de tambor con cuerpo de PVC y velocidad 7,2 rpm por cada tanque.
- Un separador o columna de sedimentación por tanque de aproximadamente 10 L de capacidad.
- Un aireador o difusor cerámico de O<sub>2</sub> por cada tanque
- Un juego de sondas que comprende sondas de pH, temperatura, conductividad, redox, caudal y oxígeno disuelto.
- Un filtro Ultra Violeta en la zona de cuarentena (no operativo).
- Panel de control de todos los automatismos existentes en la sala con sistema de alarma incorporado.
- Cuadro eléctrico con control automático de fotoperiodo programable.



**Figura 7.** Esquema general de la distribución de las Salas de experimentación.



**Figura 8.** Salas de experimentación I. A) Vista general de varios elementos del sistema (de delante hacia atrás y de izquierda a derecha): biofiltro, bombas, skimmer, filtro mecánico, bomba frío/calor, juego de sondas y panel de control; B) Tanques de cría.

Por cada tres salas existe un ozonizador (localizado en las Salas 2 y 5) para esterilizar el agua y oxidar la materia orgánica presente en la misma mediante la producción de ozono ( $O_3$ ).



**Figura 9.** Salas de experimentación II. A) Ozonizador; B) Panel de Control.

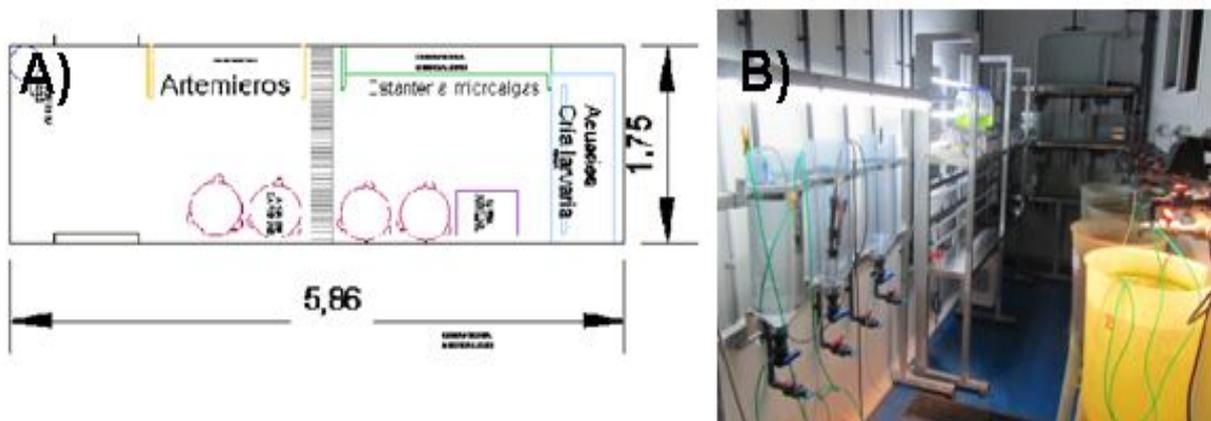
El panel de control presente en cada sala, y conectado con el puesto de control central, permite modificar y controlar *in situ* los valores límites por exceso y defecto para cada sonda, activar y programar la hora y dosis de cada toma de alimento, la administración de  $O_2$  al agua y activar y desactivar el sistema de alarmas de la propia sala.

Actualmente se está acondicionando la Sala 7 para emplearla como sala de cría larvaria, por lo que en un futuro contará con un sistema de botellas Zoug para la eclosión y una dotación de tanques rectangulares de escasa profundidad.

- Sala de cultivos auxiliares

En esta sala, situada al lado de la futura sala de cría larvaria, se realiza el cultivo de fitoplancton (*Chlorella spp.*) y la producción de zooplancton (*Daphnia spp.* y *Artemia spp.*) Para ello cuenta con el siguiente equipamiento:

- 4 tanques cilindro-cónicos de 75 L de capacidad para la cría de daphnia.
- 3 botellas invertidas o artemios de aproximadamente 10 L de capacidad para la cría de artemia.
- Una estantería con iluminación de luz blanca.
- 5 botellas de diferente capacidad (de 1 a 2 L) para el cultivo del fitoplancton.
- 2 agitadores magnéticos.



**Figura 10.** Sala de cultivos auxiliares. A) Plano de la Sala; B) Vista general de la Sala.

Actualmente se tiene proyectado un sistema de producción de fitoplancton en el que se emplearán matraces Erlenmeyer de 1 o 2 L y se incorporará el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) directamente en la botella, para lo cual se está modificando la estantería iluminada. Dentro de esta misma sala, y junto a esta estantería iluminada, se está construyendo otra estantería que en un futuro cercano albergará una serie de acuarios para cría larvaria y/o alevinaje.

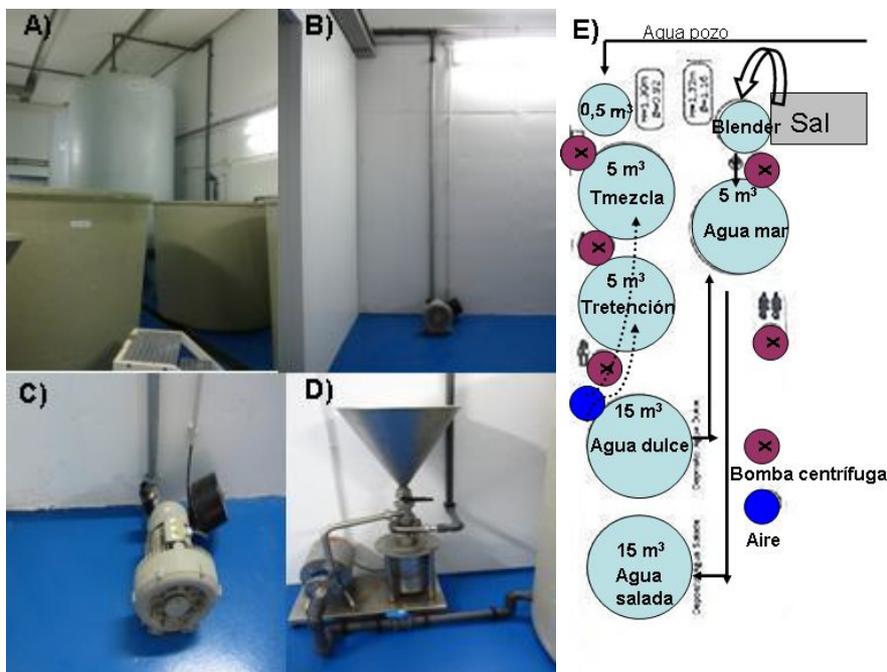
Además, esta zona de instalaciones experimentales cuenta con tres espacios adicionales: la Sala de pretratamiento, el Almacén de piensos experimentales y el Almacén de mantenimiento, donde se almacenan las herramientas y el material para las reparaciones.

Por tratarse de un espacio adicional especialmente importante en el funcionamiento del SRA del Centro a continuación se detalla la organización de la Sala de pretratamiento.

- Sala de pretratamiento

En este espacio tiene lugar la preparación y el tratamiento del agua salada y del agua dulce. Al igual que las salas de experimentación, esta sala presenta un alto grado de automatización. Esta sala cuenta con el siguiente equipamiento:

- Tanque de corrección del pH de fibra de vidrio de 500 L.
- Tanque de mezcla de fibra de vidrio de 5000 L.
- Sonda de pH asociada al Tanque de mezcla.
- Tanque de retención de fibra de vidrio de 5000 L.
- Tanque de agua de mar de fibra de vidrio de 5000 L.
- Blender o mezclador de sal.
- Tanque de fibra de vidrio de agua dulce de 15.000 L con sonda interna de nivel.
- Tanque de fibra de vidrio de agua salada de 15.000 L con sonda interna de nivel.
- 5 bombas centrífugas autoaspirantes de 0,75 kW de potencia.
- Soplante de aire.
- Panel de control de todos los automatismos existentes en la sala.

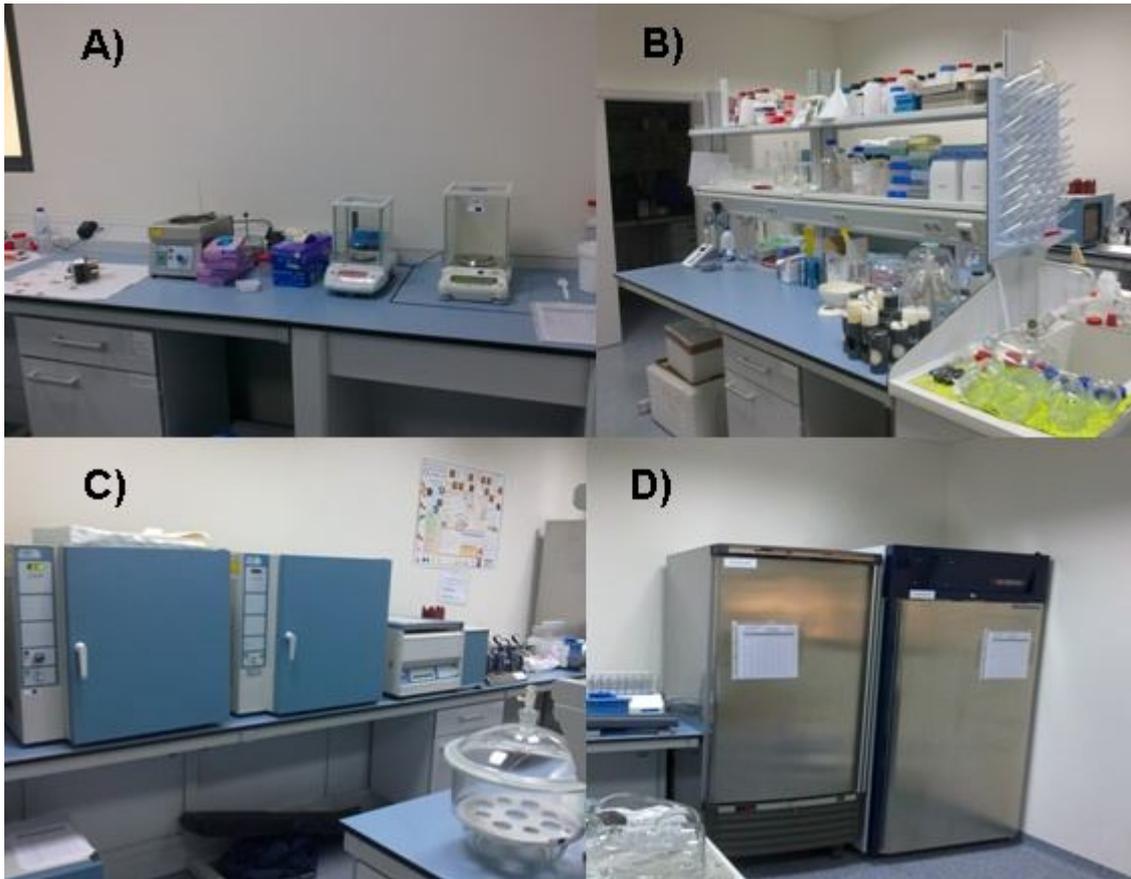


**Figura 11.** Sala de pretratamiento. A) Vista general; B) Soplante y su conducción; C) Detalle soplante; D) Blender; E) Esquema general de la distribución de la Sala.

## 2) Laboratorio

Actualmente el laboratorio puede dividirse en 3 áreas de trabajo:

- Laboratorio general: En esta área se llevan a cabo la mayoría de los análisis y operaciones que se realizan en el Centro. Se trata de una amplia sala por la que se distribuyen y delimitan ordenadamente, dentro de cada una de las 3 bancadas con las que cuenta, las distintas zonas de trabajo.
  - o En una de las bancadas laterales se localiza la zona de microscopía, que cuenta con un microscopio óptico y una lupa de laboratorio. En el otro extremo de esta misma bancada se encuentra la balanza de precisión y todo el material necesario para este tipo de medidas.
  - o La bancada central se emplea para diferentes trabajos. En uno de sus lados se determinan parámetros físico-químicos del agua, tales como pH, conductividad y contenido en O<sub>2</sub>, localizándose en este lado todos los aparatos necesarios para tales determinaciones. El otro lado se suele emplear para diagnóstico sanitario, por lo que cuenta con mecheros Bunsen, material relacionado como placas Petri, asas de siembra, material de disección para necropsias...En el frontal de esta bancada se encuentra el fregadero y el escurridor para la limpieza y secado del material empleado.
  - o En la otra bancada lateral se encuentran las estufas de laboratorio, la centrífuga y el espectrofotómetro. Al lado de esta bancada están el frigorífico (3-6 °C) y el congelador de -20 °C. El congelador de -80 °C, debido a su tamaño, se encuentra en el pasillo del almacén de mantenimiento.



**Figura 12.** Laboratorio general. A) Bancada lateral 1; B) Bancada central; C) Bancada lateral 2; D) Frigorífico y congelador de -20 °C.

En este área existen varias estanterías, cajones y armarios en los que se guarda material de laboratorio de toda clase: vasos de precipitados, matraces, pipetas.

- Sala de la cabina de flujo laminar: Esta sala es empleada para llevar a cabo todas aquellas tareas que exijan condiciones de máxima esterilidad, como por ejemplo el análisis microbiológico del agua de los tanques o la preparación de las botellas para el cultivo de *Chlorella spp.* Cuenta con una bancada auxiliar y la bancada en la que se asienta la cabina de flujo laminar que da nombre a esta sala.



**Figura 13.** *Cabina de flujo laminar.*

- Laboratorio químico: En este área principalmente se lleva a cabo la determinación del resto de parámetros relacionados con la calidad del agua que no han sido mencionados con anterioridad, como son la presencia de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) en el agua, la turbidez, alcalinidad y dureza de la misma, cloruros, fosfatos, carbonatos..., para lo cual se emplean kits comerciales (excepto para la turbidez que se emplea un turbidímetro portátil) siguiendo las indicaciones del fabricante. Además, cuenta con un equipo de producción de agua desionizada y es en este laboratorio en el que se encuentra el armario donde se almacenan todos los reactivos químicos empleados en el Centro, de ahí su nombre.



**Figura 14.** *Laboratorio químico.*

### 3) Zona de oficinas

Esta zona, a diferencia de las dos anteriores que se localizan únicamente en la planta baja, se reparte entre la planta baja y la planta superior del edificio.

En la planta baja se encuentran los despachos de los técnicos/investigadores, los cuales comparten una sala común en la que hay varios puestos de trabajo.

En uno de esos puestos se localiza el puesto de control central del sistema de Control de Supervisión y Adquisición de Datos (SCADA por sus siglas en inglés), desde donde se pueden supervisar, controlar y gestionar de manera remota todas las variables automatizadas del proceso. Además, este sistema cuenta con una aplicación web que permite el acceso al SCADA desde cualquier ordenador conectado a Internet.

En la sala contigua al despacho de los técnicos/investigadores, se encuentra el despacho del director. Este despacho es individual y además de la mesa del director cuenta con una pequeña mesa de juntas.



**Figura 15.** Zona de oficinas. A) Despacho de los técnicos; B) Hall; C) Captura SCADA: Sala de pretratamiento; D) Captura SCADA: Sala de experimentación 1.

Ya en la planta superior se encuentra el Salón de actos multiusos, destinado a actividades de formación, reuniones de trabajo, etc.

- Otros espacios

Además de los espacios ya mencionados, el Centro cuenta con 2 vestuarios en el pasillo del almacén de mantenimiento y 2 aseos y una amplia zona diáfana (712 m<sup>2</sup>), en previsión de una posible ampliación, en la planta superior.

## 1.4 Abastecimiento-SRA y acondicionamiento del agua

El abastecimiento de agua para el SRA se podría dividir en tres fases:

- **Fase 1.** Sala de pretratamiento: Desde el agua del pozo hasta completar el circuito de la Sala de pretratamiento.
- **Fase 2.** Salas de experimentación: Desde la Sala de pretratamiento hasta las salas de experimentación y su recirculación por las mismas.
- **Fase 3.** Renovación/vertido de agua: Agua vertida en la arqueta, bien por renovación de agua (únicamente en agua dulce) bien por efluentes de limpieza o fin de actividad, cuyo destino es el Pozo de dilución y finalmente, a través la red de alcantarillado, la EDAR de Segovia.

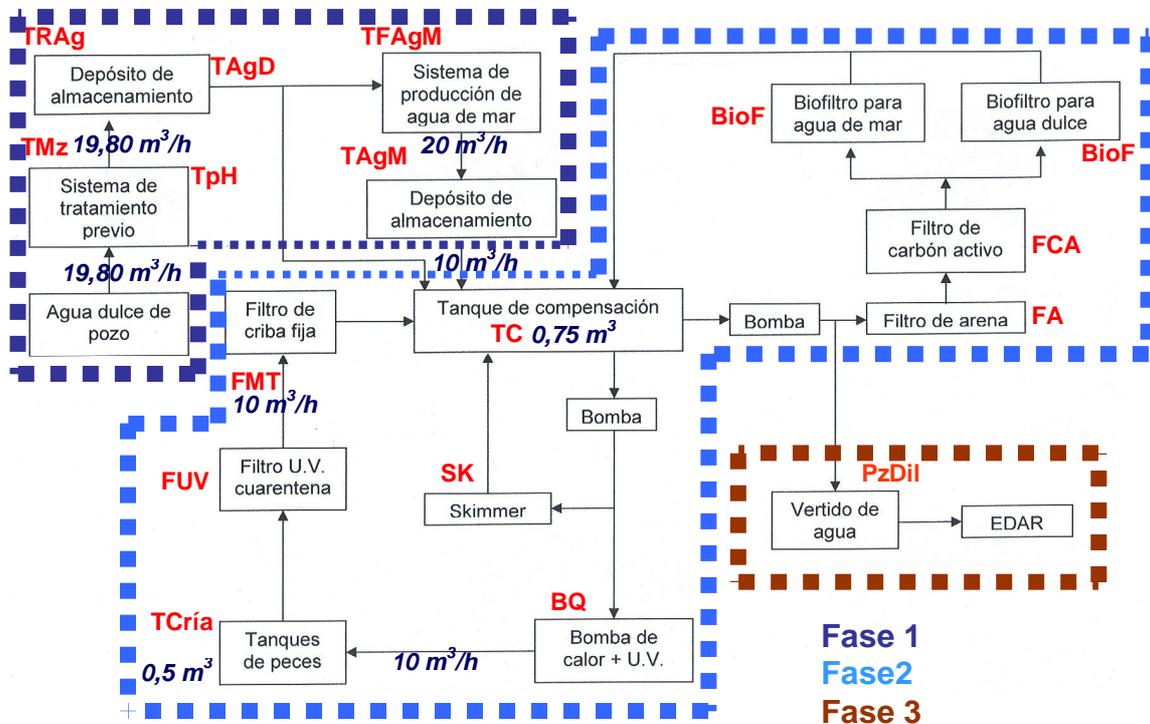


Figura 16. Diagrama general del Sistema Abastecimiento-SRA-Vertido.

## **Fase 1. Sala de pretratamiento**

El SRA del Centro obtiene el agua del pozo de abastecimiento excavado en la parcela en la que se aloja el mismo. Mediante la bomba localizada en la Caseta del pozo, y con la combinación correcta de llaves de paso, el agua es conducida hasta la Sala de pretratamiento en el edificio principal.

Una vez allí, y con la llave de paso abierta, el agua es recibida en el Tanque de corrección del pH, donde es corregida mediante la adición de ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido sódico (NaOH) según corresponda. Esta operación de corrección no suele realizarse, ya que el pH con el que parte el agua del pozo de abastecimiento (pH 7-8) es el adecuado para las actividades desempeñadas en el Centro. De este tanque el agua es bombeada al Tanque de mezcla, donde se mezcla el agua ya existente en este punto del sistema, y que presentaba el pH adecuado, con el agua cuyo pH acaba de ser corregido. Con la sonda de pH asociada al Tanque de mezcla se controla que tras la mezcla el pH sigue siendo el adecuado. En este tanque también existe un difusor cerámico de grandes dimensiones para incrementar la aireación del agua, desgasificándose y rebajando por tanto su contenido en CO<sub>2</sub>. Además, es en este punto donde se produce la sedimentación de limos y otros sólidos en suspensión.

Del Tanque de mezcla el agua es bombeada al Tanque de retención, el cual también cuenta con el difusor cerámico para la desgasificación. Recibe este nombre porque es aquí donde se almacena el agua de reserva para reponer la consumida del Tanque de agua dulce o del Tanque de agua salada (tras su preparación) cuando es necesario. El Tanque de retención almacenará agua únicamente cuando los requerimientos de los dos tanques de 15.000 L hayan sido cubiertos. Si no es así, como ocurre por ejemplo la primera vez que se pone el SRA en funcionamiento, el agua es bombeada del Tanque de retención al Tanque de agua dulce hasta que este último alcanza un nivel equivalente a 14.500 L de capacidad.

Para la preparación de agua salada, el agua, por gravedad, es transferida al Tanque de agua de mar. Al Blender, en función de los litros de agua contenidos en el Tanque de agua de mar, se le cargan los kg de sal marina artificial necesarios para conseguir una salinidad del 30 ‰. Tras varios ciclos de recirculación del agua entre el tanque y el Blender, y transcurridos aproximadamente 30 minutos, el agua, ya salada, es bombeada al Tanque de agua salada hasta alcanzar los 14.500 L de capacidad.

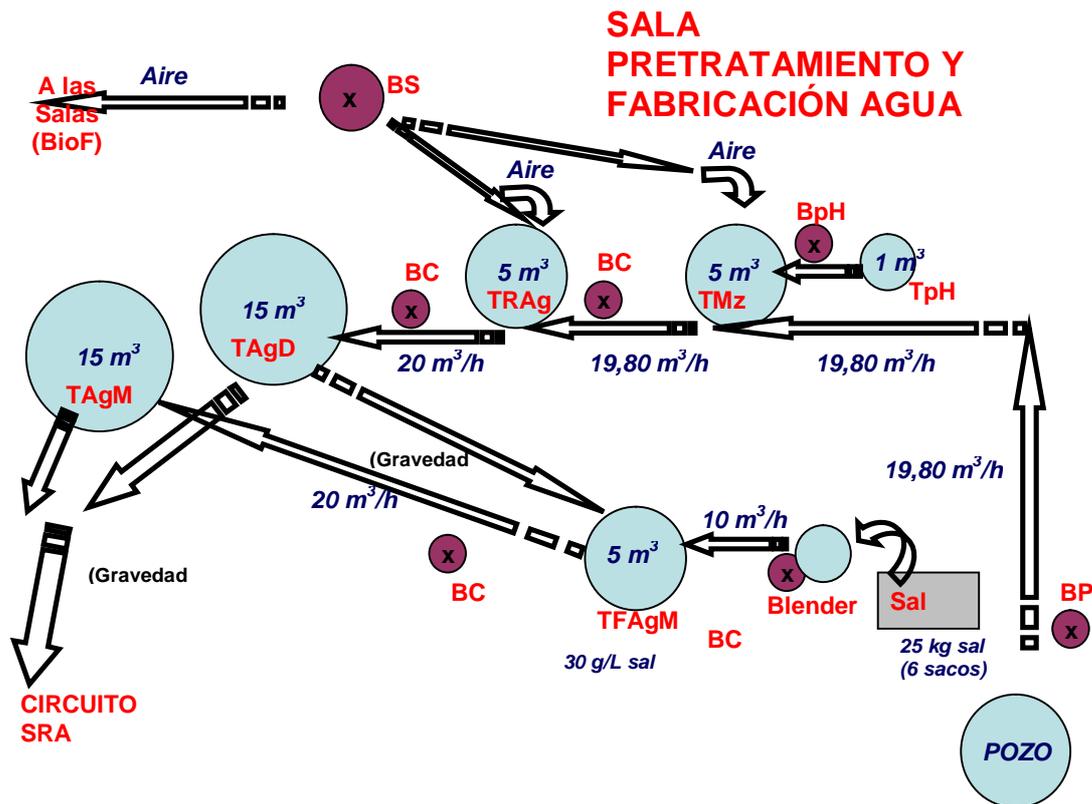


Figura 17. Esquema Sala de pretratamiento.

## Fase 2. Salas de experimentación

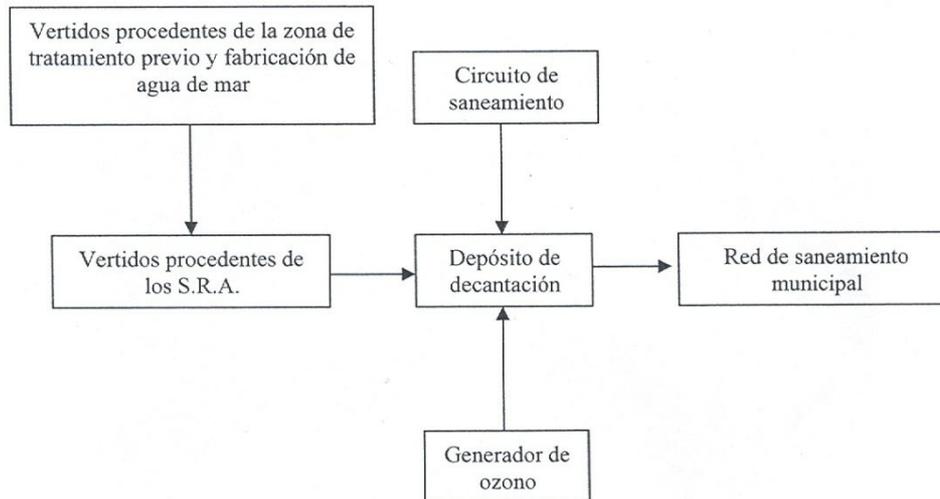
Desde los tanques de 15.000 L, el agua es transferida por gravedad hasta el Tanque de compensación de cada sala. En función de la llave que esté abierta (agua dulce o agua salada), así será el tipo de agua que llegue al Tanque de compensación.

Una vez en las salas de experimentación, el agua discurre por dos circuitos diferentes: el circuito a los Tanques de cría y el circuito de filtración.

En el primer circuito, el agua es bombeada (Bomba 3 o 4) hacia el sistema de aclimatación, hacia el skimmer y hacia el juego de sondas existente en cada sala, siguiendo por tanto tres vías diferentes. El agua que pasa por la bomba de frío/calor y por el skimmer es devuelta al tanque de compensación, mientras que el agua que transcurre por las tuberías de las sondas es dirigida a los Tanques de cría. Estos tanques cuentan con un rebosadero en su parte superior y con un desagüe en su fondo por los cuales el agua abandona el tanque y es renovada. De esta manera se eliminan los posibles restos de pienso, grasas o heces que se puedan encontrar en el agua.



efluentes del Centro. Gracias a las sondas existentes en el Pozo de dilución, se pueden controlar los valores de pH y conductividad del agua allí recogida, adicionando correctores de pH o diluyendo el contenido del tanque para ajustar sus valores a los exigidos por la legislación vigente en materia de vertido de aguas residuales.



**Figura 19.** Diagrama del vertido de aguas.

La elección del SRA como sistema de producción del Centro se ha fundamentado en las ventajas que supone este tipo de sistema:

- Aporta independencia “espacio-temporal”:
  - o Flexibilidad de la ubicación de la piscifactoría
  - o Producción continuada a lo largo del año. Elimina la estacionalidad y es independiente de las condiciones climáticas.
- Supone un ahorro de energía y agua, tanto de consumo como de vertido, reduciendo el volumen de agua residual a tratar.
- Genera un medio estable y modulable a voluntad, lo que permite un seguimiento y control continuos de la calidad del agua empleada.
- Permite una producción más intensiva y fiable.
- Facilita la gestión y manipulación de las especies y permite sistemas poliproductivos.
- Incrementa la bioseguridad mediante la prevención sanitaria de escapes y de especies no nativas.

## 1.5 Maduración del biofiltro

Una vez instalado y acondicionado el biofiltro es necesaria su maduración para que las poblaciones de bacterias nitrificantes crezcan y formen las colonias (biofilms) que permitan la filtración biológica del agua. La maduración del biofiltro significa fundamentalmente alcanzar un nivel de amonio de 0 ppm y un nivel de nitritos inferior a 0,1 ppm (Larrán, com. pers.).



*Figura 20. Vista superior del biofiltro.*

Bajo las condiciones de trabajo existentes en el Centro se ha determinado que los parámetros del agua para llevar a cabo una correcta maduración son los siguientes:

- Alcalinidad: mínimo 100 ppm (mg de  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ).
- $\text{O}_2$  disuelto: 8 ppm.
- Potencial redox: 200-350 mV.
- pH: 6-9.
- Temperatura: 25-30 °C.
- Ambiente de oscuridad.

Además, para seguir el proceso de maduración se realizan diariamente análisis de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$   $\text{NO}_3^-$ .

El tiempo medio de maduración de estos biofiltros se ha establecido en 30 y 135 días para agua dulce y salada respectivamente.

## 1.6 Transporte de los animales

El transporte de los animales hasta el Centro, debido a las restricciones económicas por la situación actual y al número de ejemplares demandado por los experimentos, el cual no es muy alto, se realiza en un tanque isotérmico de capacidad media (600 L), transportado en un vehículo industrial de alquiler de aproximadamente 12 m<sup>3</sup> de volumen de carga.

Para la carga de los animales se emplean los medios de que dispongan las empresas suministradoras.

Durante el transporte se les suministra O<sub>2</sub> procedente de una bombona conectada a un microtubo con tres difusores cerámicos. Cada hora se comprueba el nivel de O<sub>2</sub> disuelto con un oxímetro para controlar su administración y evitar la sobresaturación.

Una vez en el punto de destino, se procede a la aclimatación físico-química y térmica de los animales a las condiciones del agua de la sala de experimentación (pH y temperatura). Para ello se vacía un 10% del volumen total de la cuba de transporte y se reemplaza con la misma cantidad de agua procedente de los Tanques de cría. Tras el llenado se mantiene así un mínimo de 30 minutos para su aclimatación a las nuevas condiciones de crecimiento. Transcurrido este tiempo, se vuelve a vaciar y llenar otro 10 % del volumen total. Se repite esta operación hasta conseguir un recambio del 100 % del agua en la cuba de transporte. Tras ello, los animales son trasvasados a los Tanques de cría de forma manual, empleando para ello capazos de 30 L de capacidad.



**Figura 21.** Tanque isotérmico para el transporte. A) Vista general; B) Detalle durante el transporte.

Una vez finalizados los estudios que suponen experimentación con animales, su eliminación es encargada a una empresa de gestión de cadáveres. Dicha empresa se

encarga de su retirada del Centro y su posterior transporte hasta sus instalaciones para su correcto procesado.

## 1.7 Alimentación

Los animales empleados y criados en el Centro hasta el momento han sido animales en fase de engorde, superando todos ellos los 60 g de peso. Por este motivo, el tipo de alimento empleado hasta ahora ha sido pienso comercial granulado, puesto que con ese tamaño los peces ya son capaces de ingerir alimento artificial.

En las fases iniciales se administra un pienso con un tamaño de gránulo en torno a 3mm, y una vez superados los 100 g, de acuerdo con las indicaciones del fabricante, el tamaño de gránulo empleado está en torno a los 5 mm. La cantidad de alimento suministrado se realiza siguiendo las indicaciones de la tabla de alimentación que el fabricante facilita con la línea y variedad de pienso adquirida. Para conocer tal cantidad y el momento de sustituir un tamaño de gránulo por otro, se emplean los datos de biomasa y peso medio obtenidos en los muestreos que son realizados cada 15 o 21 días.

Para la administración del pienso se emplean los alimentadores mecánicos automatizados presentes en cada tanque de las diferentes salas. Una vez programados, y en función de la especie que se trate, los alimentadores administraran la dosis diaria calculada anteriormente, normalmente en 3 o 4 tomas a lo largo del día.



**Figura 22.** Alimentación. A) Pantalla de control de comederos del SCADA; B) Detalle de un comedero; C) Detalle de un separador.

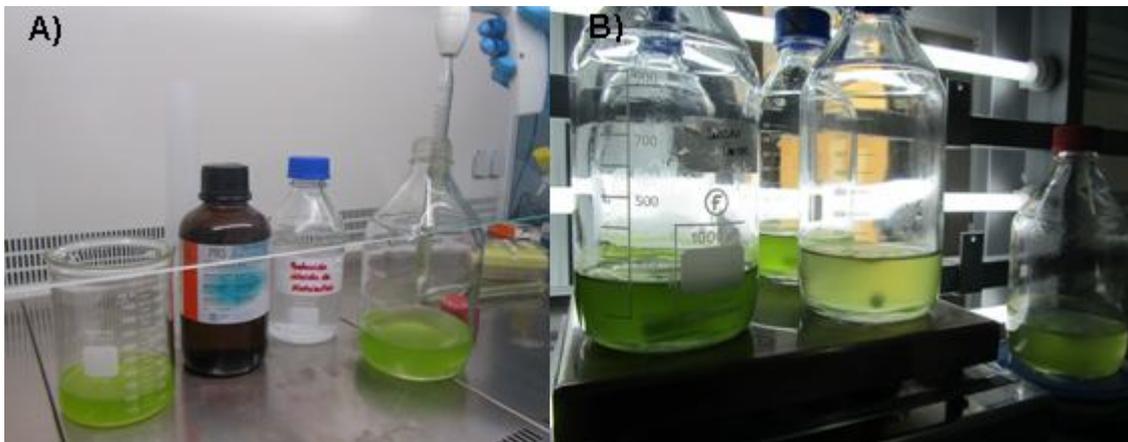
Además del comedero, cada tanque posee un separador para futuros estudios de digestibilidad.

Aunque como se ha indicado anteriormente, todos los animales con los que se ha trabajado hasta ahora eran capaces de ingerir alimento artificial, en un futuro cercano, y de acuerdo con las Líneas de Investigación definidas por el Centro, se plantea la cría larvaria de al menos algunas de las especies con las que se trabaje, lo que ha hecho necesario el establecimiento y desarrollo de una línea de cultivos auxiliares para la alimentación larvaria.

## 1.8 Cultivos auxiliares

### - Fitoplancton

El cultivo de *Chlorella spp.* se realiza inoculando esta microalga en botellas de 1 o 2 L, las cuales contienen medio de cultivo adecuado para ello, con una cámara gaseosa de 6/10 partes del recipiente contenedor y bajo un fotoperiodo de 24 h de luz a temperatura ambiente. Estas botellas están alojadas en una estantería con iluminación fluorescente y situadas sobre un agitador magnético para evitar que las células sedimenten.



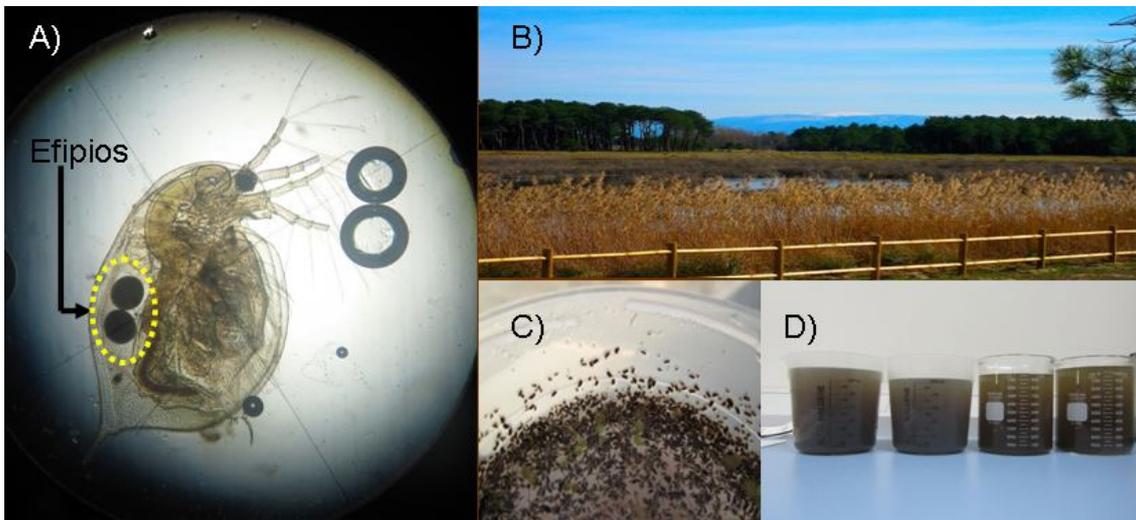
**Figura 23.** Fitoplancton. A) Preparación del cultivo; B) Cultivo de fitoplancton.

En 2-3 días el cultivo adquirirá una tonalidad verdosa intensa, lo que es indicativo de la maduración y buena marcha del mismo.

### - Daphnia

Actualmente se está manteniendo una población de *Daphnia spp.* obtenida a partir de la eclosión de efipios recolectados en las Lagunas de Cantalejo (Segovia). Esta población se ha subdividido en 3 tanques de 75 L de capacidad, todos ellos con una temperatura media de 25 °C, aireación continua y un fotoperiodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

En cuanto a su alimentación, los tanques 1 y 3 son alimentados con efluente de trucha, mientras que el tanque 2 es alimentado con el fitoplancton cultivado en el Centro.



**Figura 24.** Producción de daphnia. A) *Daphnia* adulta con efipios; B) Lagunas de Cantalejo; C) Eclósión de efipios; D) Efluente de trucha.

Diariamente se realizan análisis físico-químicos para controlar el estado del agua de los tanques y un recuento para controlar la evolución de la población.

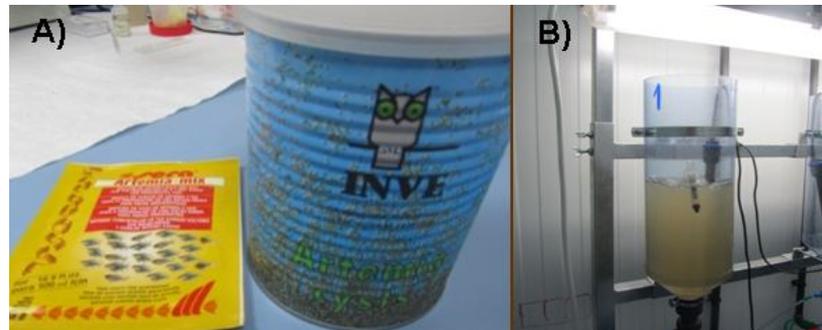
	FECHA	DÍAS DE ESTUDIO	Temperatura	pH	Dureza (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	Conductividad (mS/cm)	Amonio NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	%NH <sub>3</sub> (Tabla agua)	Amonio Libre NH <sub>3</sub>	Amonio T NH <sub>3</sub> +NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Oxígeno (mg/L)	Renovación Lidia	Tasa renovación diaria	Volumen total (L)	Turbidez (FTU)
domingo	01-Jul	46							0,00	0,0			0,00%	75,0	
lunes	02-Jul	47	21,0	8,65	432	0,912	0,10	28,40	0,04	0,1	5,81	0	0,00%	75,0	9,32
martes	03-Jul	48	21,0	8,71		1,002	0,10	28,40	0,04	0,1	5,86	0	0,00%	75,0	8,31
miércoles	04-Jul	49	22,0	8,48		0,910	0,10	17,95	0,02	0,1	5,68	0	0,00%	75,0	11,08
jueves	05-Jul	50					0,20		0,00	0,2			0,00%	75,0	
viernes	06-Jul	51	21,0	8,7		0,922	0,10	28,40	0,04	0,1	5,84	0	0,00%	75,0	20,44
sábado	07-Jul	52							0,00	0,0			0,00%	75,0	
domingo	08-Jul	53							0,00	0,0			0,00%	75,0	
lunes	09-Jul	54	21,0	8,75	450	0,964	0,10	30,00	0,04	0,1	5,85		0,00%	75,0	6,05
martes	10-Jul	55	22,0	8,69		0,901	0,08	31,50	0,04	0,1	5,97		0,00%	75,0	11,57
miércoles	11-Jul	56	23,0	8,49		0,923	0,10	34,60	0,05	0,2	5,25		0,00%	75,0	7,81
jueves	12-Jul	57	23,0	8,6		1,414	0,20	34,60	0,11	0,3	5,70		0,00%	75,0	10,80
viernes	13-Jul	58	22,0	8,5		1,386	0,80	31,50	0,37	1,2	5,41		0,00%	75,0	10,46
sábado	14-Jul	59							0,00	0,0			0,00%	75,0	
domingo	15-Jul	60							0,00	0,0			0,00%	75,0	
lunes	16-Jul	61	23	8,62	468	0,95	0,2	34,6	0,11	0,3	6,50		0,00%	75,0	4,6
martes	17-Jul	62	23,0	8,6		1,423	0,20	34,60	0,11	0,3	5,52		0,00%	75,0	8,02
miércoles	18-Jul	63	23,0	8,4		1,403	0,40	34,60	0,21	0,6	5,52		0,00%	75,0	4,39
jueves	19-Jul	64	23,0	8,6		1,406	0,10	34,60	0,05	0,2	5,40		0,00%	75,0	19,29
viernes	20-Jul	65	23,0	8,7		1,410	0,20	34,60	0,11	0,3	5,26		0,00%	75,0	22,65
sábado	21-Jul	66							0,00	0,0			0,00%	75,0	
domingo	22-Jul	67							0,00	0,0			0,00%	75,0	
lunes	23-Jul	68	22,0	8,6	468	0,988	0,20	31,50	0,09	0,3	6,43		0,00%	75,0	23,99

**Figura 25.** Hoja de control de los parámetros físico-químicos del tanque de daphnia.

### - Artemia

La producción de artemia, a diferencia de los dos casos anteriores, no se realiza de forma continuada, sino que se procede a la eclósión de quistes comerciales cuando la situación lo requiere. Además, hasta el momento, todas las eclósiones se están realizando de forma experimental, por lo que la cantidad de quistes a eclósionar es muy pequeña (2 g). Para ello, se procede a su descapsulación (<sup>1</sup>hidratación, <sup>2</sup>descapsulación,

<sup>3</sup>neutralización) en un recipiente pequeño y una vez descapsulados los quistes son trasladados al artemiero, en donde bajo condiciones de 30 ‰ de salinidad, aireación e iluminación continuas y una temperatura de 30 °C, eclosionarán en 24 h aproximadamente.



**Figura 26.** *Artemia.* A) *Quistes comerciales de artemia;* B) *Proceso de eclosión.*

Una vez eclosionados se comprueba la eficiencia de eclosión realizando un recuento en un volumen de muestra de 2 mL. Este recuento se realiza 3 veces y posteriormente se obtiene la media de las 3 observaciones.

Para llevar a cabo todas estas tareas relacionadas con los cultivos auxiliares existen PNTs donde se detalla paso a paso el procedimiento a seguir.

## **1.9 Control sanitario y tratamiento de patologías**

El analista de laboratorio realiza periódicamente análisis microbiológicos del agua para el control y seguimiento de microorganismos aerobios, anaerobios, coliformes, mohos y levaduras. De todos estos análisis el único que se realiza semanalmente es el de determinación de microorganismos aerobios mesófilos, mientras que para el resto de análisis, transcurre un periodo de tiempo más amplio entre uno y otro.

Para la realización de estos análisis se han definido PNTs específicos para cada uno de ellos, en donde se describe detalladamente el método y materiales a emplear.

Por su parte, los diagnósticos microbiológicos, parasitológicos y las necropsias solo se llevan a cabo cuando existen indicios de cualquier tipo de infección o enfermedad tales como signos externos visibles, comportamiento anormal, falta de apetito o mortalidades masivas. Tales síntomas suelen ser detectados durante la limpieza diaria de las salas.

Al igual que para los análisis microbiológicos de aguas, también se han definido PNTs para los diagnósticos microbiológicos, parasitológicos y para las necropsias en los que se detalla paso a paso el procedimiento a seguir y el material necesario.

Durante el tiempo que lleva en funcionamiento este Centro, dos han sido los principales problemas sanitarios a los que ha tenido que hacer frente: una infección por punto blanco de agua dulce (*Ichthyophthirius multifiliis*) en trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) y una extraña afección, en la que se desprendía el tejido maxilar y que aún no ha sido completamente esclarecida, en las doradas (*Sparus aurata*) de la Sala 3.

En el primero de los casos existe un detallado PNT de tratamiento y prevención frente a punto blanco basado en la aplicación de un baño con formol al 37 %. Este baño se aplica directamente en el Tanque de cría a una concentración de 0,5 mL/L durante 15 minutos. Transcurrido ese tiempo, se llena y vacía hasta la mitad el Tanque de cría en dos ocasiones y se renueva el agua del circuito para eliminar los posibles restos de formol y las formas libres parásitas que pueda haber en el agua.

En el segundo caso, a las doradas muertas se les practicó la consiguiente necropsia y se les extrajeron muestras de boca, hígado y riñón para análisis microbiológico e histopatológico, remitiendo parte de las mismas al Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y al Departamento de Patología de Dibaq. En el informe emitido por el centro universitario se detectaba la presencia de *Vibrio alginolyticus*, mientras que el análisis practicado por los técnicos de Dibaq relacionaba las lesiones producidas con el virus del papiloma, por lo que la causa de esta rara incidencia no ha podido resolverse satisfactoriamente.



**Figura 27.** Daños ocasionados por la infección no esclarecida en dorada.

De todas formas, lo que sí parece claro es que las excelentes condiciones de higiene en las que se mantiene el Centro, gracias a la limpieza diaria de todas las salas mantenidas en funcionamiento, contribuye de manera muy positiva a la baja incidencia de enfermedades en sus instalaciones (Larrán, com. pers.).

## **1.10 Limpieza y mantenimiento de las instalaciones**

Las tareas de limpieza y mantenimiento se podrían clasificar en tareas diarias, semanales y mensuales.

### **1. Tareas diarias**

Se centran exclusivamente en la limpieza y mantenimiento de las Salas de experimentación, tanto de los tanques como de otros elementos.

Todas las salas presentan, en cada punto de acceso a las mismas, pediluvios con bioxan (producto comercial desinfectante compuesto por una mezcla de peróxidos) diluído al 1 %, lo que ayuda a mantener las condiciones de higiene en toda la zona experimental.

En lo referente a los Tanques de cría, el sistema de autolimpieza que incorporan, con el suelo ligeramente inclinado y un desagüe en su centro conectado a un separador, facilita enormemente las tareas de limpieza de los tanques.

Entre los otros elementos que también requieren limpieza y mantenimiento diarios se encuentran los difusores de O<sub>2</sub> y sus tubos, los separadores, los alimentadores, la cabeza del skimmer, la criba, los filtros mecánicos, la membrana de la sonda de O<sub>2</sub> y el suelo de la sala.

Para llevar un control de las operaciones de limpieza diarias realizadas existe una hoja de registro de limpieza donde se anotan qué tareas se han llevado a cabo y cuáles quedan por realizar. Esta hoja es supervisada al final del día por un responsable que dará el visto bueno a las acciones realizadas o indicará qué tareas, de las que quedaron pendientes, es necesario realizar.

### **2. Tareas semanales**

También aparecen recogidas en la hoja de registro de limpieza y entre ellas se encuentran la limpieza del tanque de compensación, la limpieza de comederos y la

limpieza del suelo con lejía. Al realizar esta última operación es importante evitar, en la medida de lo posible, cualquier contacto de la lejía con el filtro biológico o cualquier vertido de la misma al tanque de compensación.

SALA 2		SEMANA				
		LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES
Luces están en automático, comprobar que el interruptor encendido es el correcto						
Llenado pediluvios (Bioxán 1%; ~20 mL)						
Sifonado tanques (sólo los que se vean más sucios)						
Limpiar con cepillo bordes de los tanques, tubo de entrada de agua y tubo de O <sub>2</sub> del difusor						
Limpieza separadores y vaciado						
Limpieza suelo con agua a presión y revisar arqueta (limpieza con manguera)						
Limpieza con esponja de la membrana de la sonda de O <sub>2</sub>						
Limpieza parte superior del skimmer (diaria en salada, semanal en agua dulce)						
Limpieza criba (abrir válvula de guillotina y limpiar con agua a presión). Con ayuda de Fede o Gonzalo						
Retrolavado del filtro de arena para renovación agua sólo durante 30 seg (presión manométrica deseable < 0,5 bares)						
Control de presión de salidad del agua al biofiltro y del nivel de potencial redox						
Comprobación/llenado de comederos						
Ozonización (niveles deseables 350-400 mV) importante en AGUA SALADA						
Comprobar nivel de los tanques y del separador (el agua tiene que salir por el rebosadero) después de limpieza sala						
Purgar los tanques						
Comprobar que funcionan todos los difusores de oxígeno						
Desinfección del material de limpieza (sacaderas, cepillos...) Bioxán 1 % (para medio cubo lleno 40-50 mL)						
Limpieza tanque compensación						
Limpieza suelo de la sala con lejía 1% (1 vez a la semana)						
Limpieza de los comederos (cada semana)						
Cambiar sentido entrada agua a los tanques (1 vez cada 15 días)						

**Figura 28.** Tareas de limpieza y mantenimiento diarias y semanales.

### 3. Tareas mensuales

Las tareas de limpieza mensuales poseen una hoja de registro propia, donde se recogen las siguientes acciones: calibración de las sondas y limpieza del skimmer de todas las salas en funcionamiento y calibración de sondas y tanques de 15.000 L de la Sala de pretratamiento.

		ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE
SALA1	Calibración sondas												
SALA 2	Calibración sondas												
	Limpieza del skimmer por dentro												
SALA 3	Calibración sondas												
SALA 4	Calibración sondas												
SALA 5	Calibración sondas												
SALA 6	Calibración sondas												
Pretratamiento/Pozo	Calibración pH y conductividad												
	Limpieza tanques 15000 L (agua dulce/salada)												

**Figura 29.** Tareas de limpieza mensuales.

## 1.11 Proyectos desarrollados en el Centro

En la actualidad, el Centro está desarrollando tanto proyectos de financiación pública, dependientes del Itacyl o del INIA, como proyectos colaborativos con empresas privadas. Estos proyectos pueden estar integrados en una o en varias de las Líneas de Investigación definidas por el Centro.

### *Proyectos de carácter público*

**Título:** “Sistema de Producción Acuícola en circuito cerrado. Manejo de la alimentación y bienestar de los peces”

**Organismo:** Itacyl

**Periodo:** 2010-2013

**Líneas de investigación en las que se integra el proyecto:** 1) Desarrollo y evaluación de nuevos sistemas y dietas, 2) Sistemas de manejo y bienestar animal y 4) Reducción del impacto ambiental y desarrollo sostenible.

**Descripción:** Se pretende desarrollar un protocolo tipo experimental de alimentación para las principales especies de peces que se cultivan en España. Se estudiará la alimentación larvaria de tenca (*Tinca tinca*) con crustáceos (*Daphnia spp.*) producidos a partir de microalgas obtenidas en un proceso de revalorización de efluentes de piscifactoría. Por último se estudiará en la trucha indicadores de estrés en condiciones experimentales frente a condiciones de producción intensiva.

**Título:** “Tecnología de la Recirculación aplicada a la experimentación en Acuicultura”

**Organismo:** Itacyl

**Periodo:** 2011-2012

**Descripción:** El objetivo general es la puesta en marcha del Centro de Investigación en acuicultura y la realización de actividades de I+D+i del Centro. De forma específica se iniciará el funcionamiento de las diferentes salas de experimentación (pretratamiento, producción de agua salada, control de la calidad del agua, recirculación y vertido), puesta a punto de todos los equipos de laboratorio (calibración, manipulación de gases de laboratorio...), introducción de especies de interés comercial en las salas (dorada, tenca, trucha arco-iris...) y elaboración de PNTs correspondientes al mantenimiento del SRA y todos aquellos sistemas relacionados con las líneas de investigación del Centro.

**Título:** “Revaloración de la biomasa algal obtenida a partir del tratamiento fotosintético de aguas residuales agroalimentarias para su uso en acuicultura”

**Organismo:** INIA

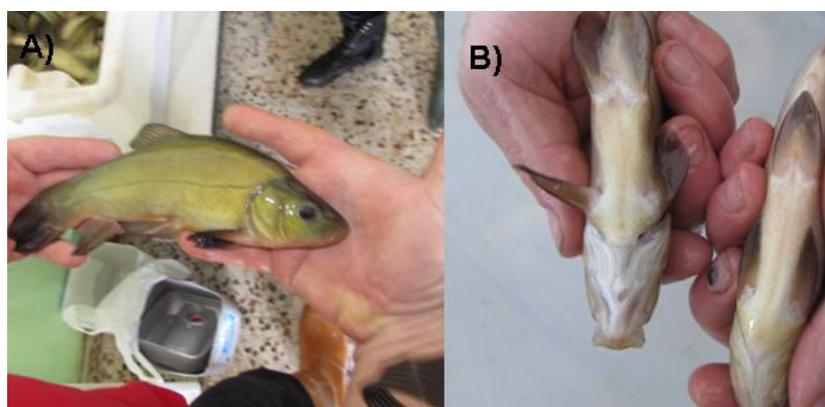
**Periodo:** 2011-2013

**Líneas de investigación en las que se integra el proyecto:** 1) Desarrollo y evaluación de nuevos sistemas y dietas, 3) Genética y reproducción animal y 4) Reducción del impacto ambiental y desarrollo sostenible.

**Descripción:** El Centro de Acuicultura participa en la caracterización del efluente, en la producción y valor nutricional de daphnia a partir de la biomasa algal obtenida y finalmente, en la evaluación de la diferencia en el perfil de ácidos grasos (docosahexanoico, eicosapentanoico y araquidónico) en larvas de tenca alimentada con diferentes dietas (*Daphnia spp.* y *Artemia spp.*).

Para la obtención de las larvas de tenca, el Centro se plantea la reproducción de esta especie en sus propias instalaciones. Para ello, será necesario tratar de imitar en los tanques de cría su medio natural con refugios y simulaciones de vegetación, ya que es una especie que aún no se ha domesticado totalmente. De acuerdo con todo esto, se habilitará una sala (Sala 1) en la que mantener en condiciones experimentales, a individuos adultos con la intención de conseguir su reproducción artificial.

La tenca es una especie ovípara, gonocórica y con un desarrollo gonadal sincrónico por grupos. Además, este pez presenta dimorfismo sexual, ya que los machos poseen las aletas pelvianas típicamente engrosadas en sus primeros radios y una característica protuberancia en su punto de inserción.



**Figura 30.** Tenca. A) Ejemplar adulto de tenca; B) Ejemplo del dimorfismo sexual en tenca: el ejemplar de la izquierda es un macho, el de la derecha una hembra.

En su reproducción, los parámetros más importantes a controlar son el fotoperiodo y la temperatura.

#### A. Fotoperiodo

El fotoperiodo puede ser controlado fácilmente gracias a la regulación programable de la iluminación. El control de este parámetro se realizará siguiendo las indicaciones de la Tabla.1, correspondiente al calendario facilitado por la empresa Tencas de Casaseca:

**Tabla 1.** Calendario del control del fotoperiodo en la reproducción artificial de tenca.

ÉPOCA	ACTIVIDAD	Nº HORAS DE LUZ
1ª QUINCENA FEBRERO	Distribuir lotes (♂s y ♀s), para aclimatación.	10 h-10:38 h
ABRIL	Iniciar muestreos para ver cuándo alcanzan la madurez sexual	12:43 h-13:56 h
ÚLTIMA SEMANA MAYO-1ª SEMANA JUNIO	Primera extracción de gametos y comienzo de las incubaciones	14:50-14:55 h 14:55-15:00 h
JUNIO	INCUBACIONES	15:00 h-15:05 h
JULIO	Últimas incubaciones y manejo de alevines	15:00 h-14:20 h
AGOSTO Y SEPTIEMBRE	Manejo de alevines	14:20 h-13:00 h 13:00 h-11:48 h

#### B. Temperatura

En el caso de la temperatura, para que se produzca la maduración de las gónadas y pueda tener lugar la gametogénesis, ésta tiene que ser superior a 10 °C, situándose la temperatura crítica máxima por encima de 29 °C y la mínima por debajo de 18°C. Cuanto mayor sea la temperatura dentro de este rango, más rápidamente alcanzará la madurez.

Bajo las condiciones experimentales, como el SRA permite controlar la temperatura del agua, se mantendrá una temperatura constante de 24-24,5 °C.

Como se desea controlar en todo momento el evento reproductivo, es necesario inducir la puesta empleando una hormona con actividad luteinizante. El momento de administrar esta hormona vendrá marcado por un engrosamiento del abdomen, lo que indica que está empezando la maduración gonadal.

La dosis a administrar es igual a 0,02 mg/kg de pez, mediante una inyección intramuscular en parte dorsal de la línea lateral del pez, intentando introducir la aguja entre dos escamas.

Además, durante la inducción es necesario mantener las siguientes condiciones en los tanques:

- Durante el despesque e inducción hormonal de las hembras, es muy importante suministrar O<sub>2</sub> en todo momento, porque una bajada del nivel de oxígeno puede suponer la reabsorción del ovario.
- No suministrar alimento.
- Evitar ruidos, vibraciones y cualquier estrés.

Como la temperatura del agua se mantiene constante a 24-24,5 °C, la freza tendrá lugar aproximadamente 30 h después de la administración de la hormona. Si esto es así, al aplicar una ligera presión en el abdomen las hembras inducidas deberán soltar la hueva con facilidad.

A continuación se extraen los gametos de machos y hembras, se procede a la fecundación, y tras un tratamiento con alcalasa, los huevos son transferidos a las botellas Zoug.

Tras dos horas de incubación, ya se pueden observar los huevos en la lupa para comprobar el porcentaje de fecundación.

#### *Proyectos colaborativos con empresas*

**Título:** “Evaluación de parámetros productivos en dorada (*Sparus aurata*) durante la fase de engorde en SRA”

**Empresa:** Dibaq Diproteg

**Líneas de investigación en las que se integra el proyecto:** 1) Desarrollo y evaluación de nuevos sistemas y dietas.

**Descripción:** En este proyecto se ponen a punto dos salas de agua salada (Sala 2 y Sala 3) en las cuales las doradas, a una temperatura del agua de 23,5 °C, son alimentadas con 5 piensos de engorde diferentes (4 dietas experimentales más un control, todos ellos de composición desconocida). Cada dieta posee diferentes niveles de inclusión de ingredientes antioxidantes procedentes de la industria agroalimentaria. Se realizarán muestreos quincenales en los que se obtendrán los datos biométricos que permitirán controlar el crecimiento de los animales y determinar los parámetros productivos asociados al mismo.

### Diseño experimental

El diseño era completamente aleatorizado, para lo que se obtuvo una combinación aleatoria de tanque-tratamiento.

En un principio, la idea era que en cada tanque hubiera el mismo número de doradas, pero al observar las lesiones bucales de las doradas de la sala 3, se decidió no mezclar doradas de esta sala 3 con las de la sala 2, con lo cual, los tratamientos se distribuyeron en función del número de doradas por sala, con la condición de que todos los tratamientos contaran al menos con una réplica en cada sala.

- Determinación del número máximo de réplicas

Si el número de salas es igual a dos y existen 10 tanques por sala:

$$\text{N}^\circ \text{ máximo de repeticiones} = 20 \text{ tanques} / 5 \text{ tipos de pienso} = 4$$

Intervalo de densidad final 10-20 kg/m<sup>3</sup>, como los Tanques de cría son de una capacidad de 500 L:

$$\text{Mínima} \rightarrow (0,5 \text{ m}^3 \times 10\text{kg}) / 1\text{m}^3 = 5 \text{ kg}$$

$$\text{Máxima} \rightarrow (0,5 \text{ m}^3 \times 20 \text{ kg}) / 1\text{m}^3 = 10 \text{ kg}$$

Según las indicaciones de Dibaq, las doradas deben engordarse has alcanzar un peso final de 0,300-0,400 kg, por tanto el número mínimo y máximo de doradas por tanque viene especificado por el siguiente cálculo:

$$\text{Mínimo} \rightarrow 5 \text{ kg} / (0,350 \text{ kg/doradas}) = 14 \text{ doradas/ tanque}$$

$$\text{Máximo} \rightarrow 10 \text{ kg} / (0,350 \text{ kg/doradas}) = 28 \text{ doradas/ tanque}$$

Debido a que el número de doradas mantenidas en una sala y otra es diferente, se calculó el número de réplicas que se podían establecer:

- SALA 2

Número doradas: 133

Como se deseaba realizar el máximo número de réplicas posible, y el número mínimo recomendable de doradas en tanques de 0,5 m<sup>3</sup> es de 14, se distribuyeron 13 -14 doradas en cada tanque, obteniendo dos réplicas en esta sala.

- SALA 3

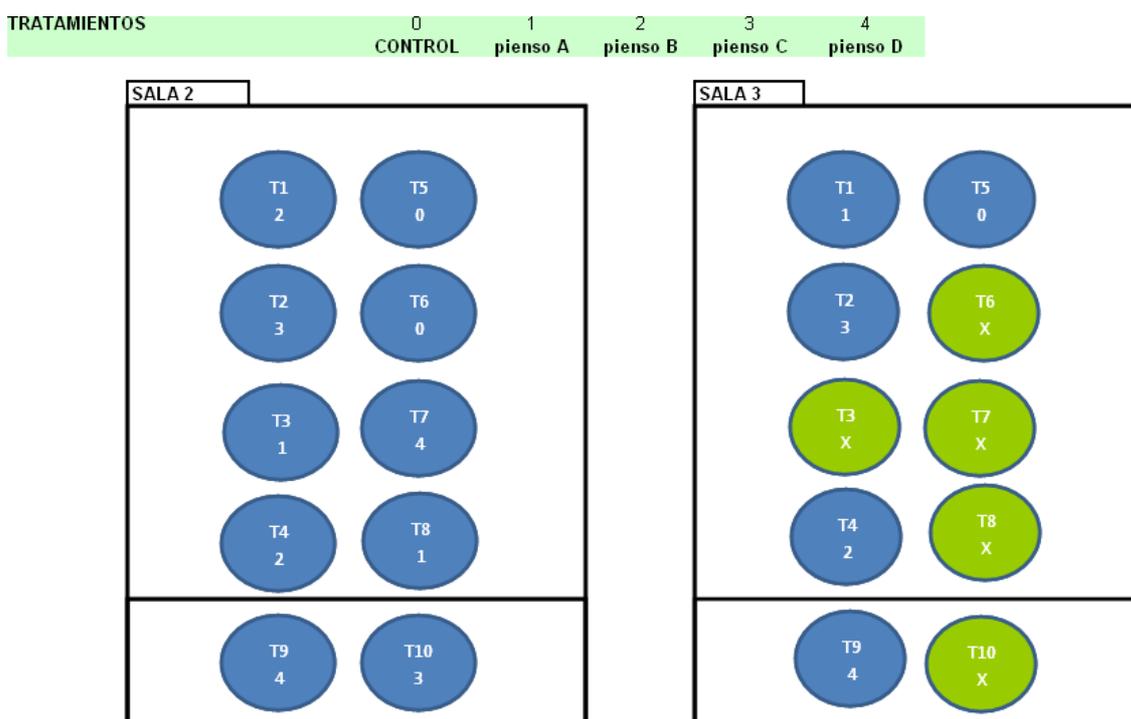
Número doradas: 99

Como el número mínimo recomendable de doradas en tanques de 0,5 m<sup>3</sup> es de 14, y se deseaba realizar el máximo número de réplicas posible, se distribuyeron las 99 doradas en 5 tanques (19-20 doradas/tanque), obteniéndose una única réplica en esta sala.

De acuerdo con todo esto, el diseño experimental podría resumirse en los siguientes datos:

- Número total de peces: 232
- Número de tratamientos: 5
- Réplicas por tratamiento: 3
- Número total de réplicas: 15

## Distribución final



**Figura 31.** Esquema de la distribución final de las diferentes dietas experimentales en las Salas 2 y 3. (Nota: Los tanques representados en color azul son los que contienen doradas y los representados en verde están vacíos).

**Título:** “Estudio de indicadores de estrés en condiciones experimentales frente a condiciones de producción intensiva en trucha arco-iris (*Onchorhynchus mykiss*)”

**Empresa:** IPEASA S.A.

**Líneas de investigación en las que se integra el proyecto:** 2) Sistemas de manejo y bienestar animal.

**Descripción:** En el presente proyecto se estudia cómo influye la alta densidad de trabajo existente en una piscifactoría sobre los indicadores de estrés de los peces (glucosa, lactato y cortisol) y se comparan estos datos con los datos obtenidos en una de las salas del Centro (Sala 5), donde se trabaja bajo condiciones experimentales.

En la piscifactoría se seleccionaron e identificaron varios estanques de forma que pudieran ser muestreados periódicamente (cada 3 semanas). En cada muestreo se determina para cada estanque, a partir de los datos de biomasa y volumen de agua proporcionados por el piscicultor, la densidad a la que están sometidos los peces. Al

mismo tiempo, se reservó una sala donde se mantiene trucha arco-iris en condiciones experimentales, con unos parámetros de calidad de agua determinados y densidades máximas soportables por los peces desde el punto de vista de bienestar animal.

En cada muestreo, dentro del estanque seleccionado, se miden los siguientes parámetros: densidad, temperatura O<sub>2</sub> disuelto, pH y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. La temperatura y el O<sub>2</sub> disuelto se miden *in situ*, mientras que el pH y el nivel de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se determinan en el laboratorio. Para ello, se toma una muestra representativa de las condiciones generales del estanque y se transporta al Centro. A su vez, se recogen los datos de calidad de agua de la sala donde se encuentran los peces en condiciones experimentales.

Habitualmente, los parámetros utilizados para identificar el estrés son los denominados de “respuesta primaria”, es decir, indicadores neuroendocrinos como la adrenalina y el cortisol, que son inductores de cambios rápidos a nivel cardiovascular y metabólico. En concreto, en el presente proyecto se emplean como indicadores de estrés los niveles plasmáticos de glucosa, lactato y cortisol.

Dentro de los estanques seleccionados y de los tanques experimentales, en cada muestreo se recoge un número de 5 peces por estanque/tanque a los que se extrae una muestra de sangre para su posterior análisis bioquímico.

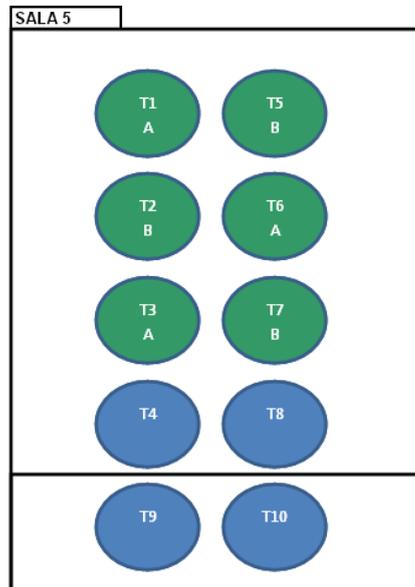
Al final del estudio, se dispondrá de un conjunto de datos relativos a la densidad de peces en los distintos estanques de la piscifactoría seleccionados y de los tanques de cría del Centro, parámetros físico-químicos del agua (temperatura, pH, O<sub>2</sub> disuelto y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y niveles plasmáticos de los indicadores de estrés, relacionados con dichas condiciones de producción. Se analizará la posible influencia de cada uno de los factores (densidad y calidad del agua) sobre la variable respuesta determinada por los indicadores de estrés.

### Diseño experimental

Las densidades de producción definidas para la prueba experimental realizada en el Centro son Alta (A; 40 kg/m<sup>3</sup>) y Baja (B; 15 kg/m<sup>3</sup>). Además, será necesario realizar despesques periódicos según los peces vayan creciendo para mantener constantes estas densidades. El número de réplicas establecido para cada densidad fue de 3 réplicas.

## Distribución final

La asignación de cada tipo de densidad a cada tanque de cría se realizó de forma aleatoria, quedando de la siguiente manera:



*Figura 32. Esquema de la distribución final de las diferentes densidades en la Sala 5.*

### 1.12 Situación actual

El Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina, es un organismo de titularidad pública dependiente tanto económica como administrativamente del Itacyl, cuya sede se encuentra en Valladolid.

Este hecho, unido a la dificultad de obtener datos públicos actualizados, obliga a definir su situación actual únicamente en base a las observaciones realizadas y las conversaciones mantenidas con el personal del Centro durante el periodo de prácticas.

Como ya se indicó en la Introducción, fue inaugurado en el mes de abril del año 2011, por lo que sus instalaciones son bastante recientes y se encuentran en un buen estado de conservación.

A pesar de que en el planteamiento inicial, la zona de laboratorios iba a contar con un área de calidad del producto final, actualmente el Centro no cuenta con el equipamiento necesario para desarrollar los análisis relacionados con este fin.

En la misma línea, aunque en un principio estaba previsto que la dotación de personal estuviera compuesta por 10 trabajadores (dos biólogos, dos veterinarios, dos analistas de laboratorio y cuatro operarios de mantenimiento) incorporados de forma gradual, a día de hoy solo cuenta con 3 trabajadores (dos técnicos/investigadores y un analista de laboratorio), los cuales, exceptuando el técnico que ejerce labores de director, terminan contrato en diciembre del presente año y no es segura su renovación.



*Figura 33. Vista general de la fachada principal del Centro.*

Toda esta situación, motivada por la actual situación de crisis económica y financiera que está atravesando, no solo la Comunidad de Castilla y León, sino todo el país, deja en el aire cuál será el futuro del Centro, y si recibirá el apoyo necesario por parte de la Junta y de las empresas de la Comunidad pertenecientes a este sector para hacer realidad el objetivo con el que nació este proyecto.

## **2. Actividades realizadas**

A continuación se presentarán todas las actividades realizadas durante la estancia en el Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina.

### **2.1 Labores rutinarias**

- Limpieza y mantenimiento de las Salas de experimentación

Todas las mañanas a primera hora se registraban los datos de temperatura y humedad ambiental de todas las salas en funcionamiento. A continuación se procedía a la limpieza de las Salas 2 y 3, salas en las que se mantenía una especie marina, en concreto dorada. Una vez acabado el trabajo se colaboraba en la limpieza y mantenimiento de la Sala 5, sala en la que se mantenían ejemplares de trucha arco-iris.

Lo primero que se hacía, una vez en las salas de agua salada, era proceder a la limpieza y vaciado de los separadores.

En cuanto a los Tanques de cría, y como ya se indicó anteriormente, todos ellos contaban con un sistema de autolimpieza. Gracias a este sistema, la limpieza de los tanques se limitaba a pequeños pero importantes trabajos como la limpieza de sus bordes, del tubo de entrada de agua, de las bocas de los rebosaderos o el sifonado esporádico de aquellos restos que el sistema de autolimpieza no había podido eliminar.

A continuación se limpiaban la cabeza del skimmer y el panel de la criba de guillotina y se realizaba el retrolavado de los filtros mecánicos. Para realizar esta última tarea era necesario detener las bombas del sistema de filtración para cambiar la llave del filtro a la posición de lavado. Después se volvían a activar y se mantenía la llave en esta posición durante 30 segundos. Transcurrido ese tiempo se situaba la llave en su posición original, también con las bombas detenidas, y se comprobaba la fuerza con la que el agua salía de los mismos.

Después de realizar estas operaciones, se comprobaba el correcto funcionamiento de los difusores de O<sub>2</sub>. En caso de que alguno no funcionara correctamente, se le reemplazaba por otro y se procedía a su limpieza.

Tras la limpieza de todos los tanques y el resto de elementos, el suelo de las salas era limpiado con agua a presión (los viernes además de agua se empleaba lejía), se revisaba

el sumidero de la arqueta central y se conectaba el ozonizador, cambiando la administración de O<sub>3</sub> de una sala a la otra a lo largo del día.

Una vez terminada la limpieza diaria, y antes de abandonar la sala, se comprobaba el nivel de los tanques y que el agua salía por el rebosadero. Estas comprobaciones resultaban muy importantes, ya que así se evitaban posibles problemas que hubieran podido derivar en la muerte de algunos o varios animales.

Además de todo esto, todos los lunes de cada semana se limpiaba el Tanque de compensación, ya que siempre se acumulaban algunos restos de suciedad que la criba no era capaz de retener. Para ello se desconectaban todas las alarmas, se detenían las bombas y se cerraba la llave de abastecimiento de agua salada al Tanque de compensación. A continuación se limpiaban las paredes y el fondo del tanque con un cepillo. Una vez limpias se aspiraba el agua con una bomba de mano y se transfería a un tanque portátil de 200 L con una malla de filtrado de 100 µm. Después se devolvía este agua al Tanque de compensación, se volvían a conectar bombas y alarmas y se abría de nuevo la llave de agua salada.



**Figura 34.** Limpieza del Tanque de compensación.

- Alimentación: Control de comederos

Todos los días, al mismo tiempo que se limpiaban las salas, se comprobaba el estado de los comederos. Si se observaba que su contenido estaba próximo a agotarse se añadía más pienso en el comedero correspondiente. Durante la realización de esta operación en la primera semana de estancia en el Centro, se comprobó que el contenido en pienso de los comederos disminuía más lentamente de lo esperado, lo que unido a que el

crecimiento de los animales no se correspondía con el estimado, supuso que se decidiera comprobar si estaban administrando correctamente la ración diaria estipulada.

Para realizar esta comprobación, se pesaba el contenido del comedero transcurridos un determinado número de días desde la última vez que se llenó. Como se conocía el número de días, la ración diaria y la cantidad de pienso añadido era fácil calcular cuánto pienso había administrado durante esos días. Estos datos se contrastaron con los teóricos y se observó que algunos comederos no llegaban a suministrar realmente la ración programada.

Tal resultado se atribuyó a dos posibles causas:

- 1) el pienso absorbía humedad, se apelmazaba e impedía que el comedero administrara la dosis programada,
- 2) el tambor del comedero estaba demasiado ajustado y esto impedía que girara correctamente, suministrando una cantidad de pienso menor a la estipulada.

Para solucionar este problema, se decidió limpiar los comederos todas las semanas y sustituir aquellos tambores en los que se observaba que el giro era demasiado forzado. Además, se siguió realizando esta misma comprobación una vez por semana para comprobar la eficacia de las medidas tomadas. Como no se obtuvo ningún resultado satisfactorio se decidió comunicar al fabricante el problema existente. En su respuesta, el fabricante solicitó que se le enviaran los datos de número total de vueltas del tambor y tiempo empleado en la administración de cada dosis. Una vez se tomaron estos datos y fueron enviados al fabricante, no se obtuvo ninguna respuesta satisfactoria por su parte al por qué de este funcionamiento incorrecto.

- Control de parámetros físico-químicos de los Tanques de cría

Todos los días, a primera hora de la mañana, se tomaba una muestra de agua de cada una de las salas en funcionamiento. Una vez terminadas las labores de limpieza se procedía al análisis químico del agua. Las especies químicas determinadas eran  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$ . Para ello se empleaban kits colorimétricos comerciales siguiendo las instrucciones del fabricante.

El procedimiento era el siguiente: se alicuotaban 10 mL de muestra de agua de cada sala en tantos tubos de ensayo como análisis a realizar, en este caso tres. Se adicionaban los reactivos indicados en las instrucciones y con un 'timer' se controlaba el tiempo de

espera. Transcurrido el tiempo necesario para que las reacciones tuvieran lugar, se analizaban los resultados con un espectrofotómetro portátil.

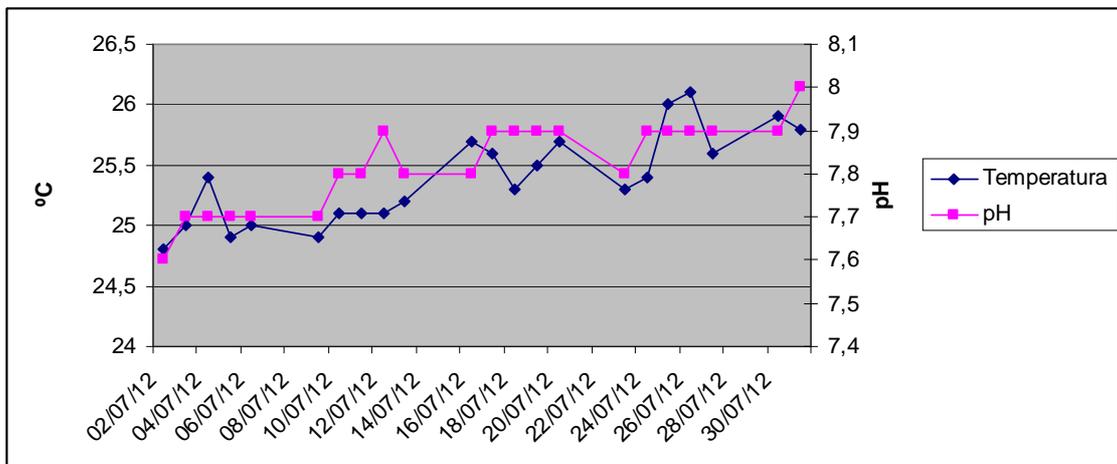


Figura 35. Sala 3. Evolución de los parámetros del agua (agua salada).

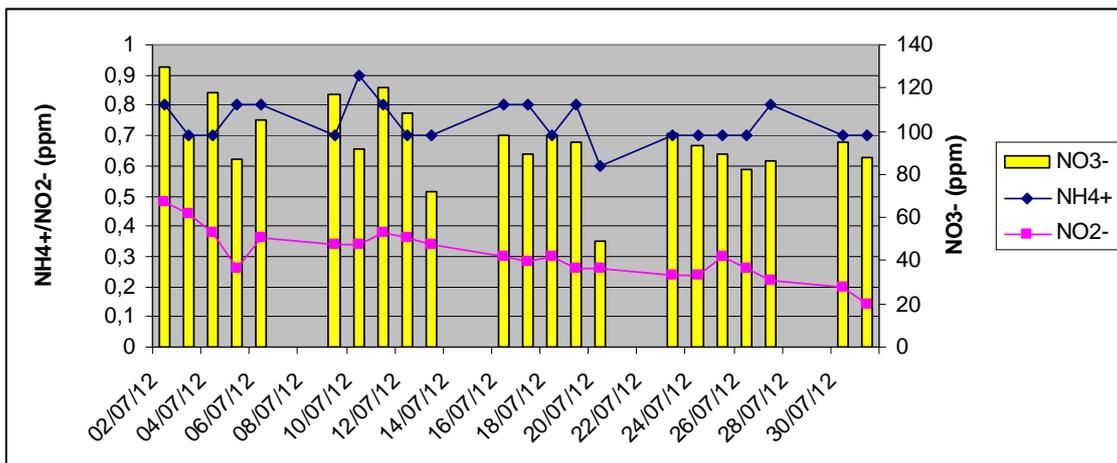


Figura 36. Sala 3. Evolución de los compuestos del N en el agua.

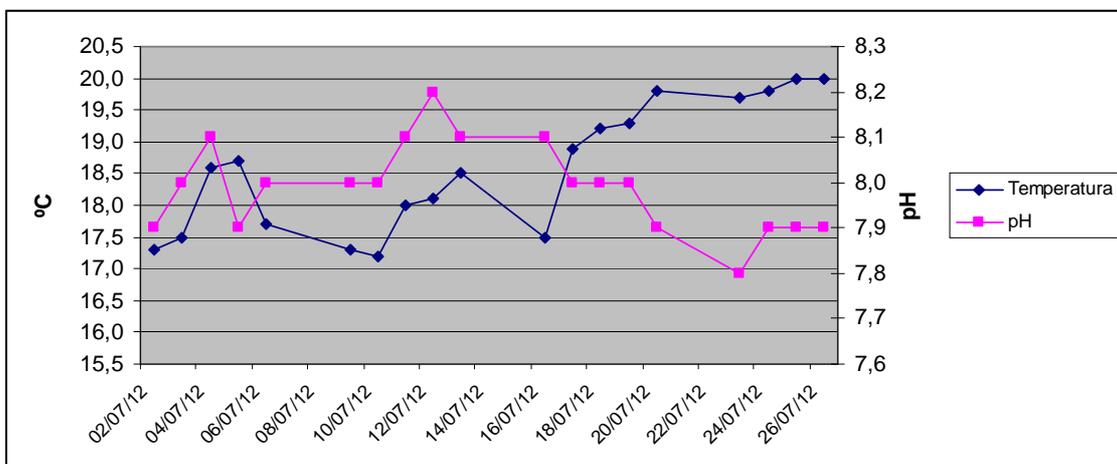
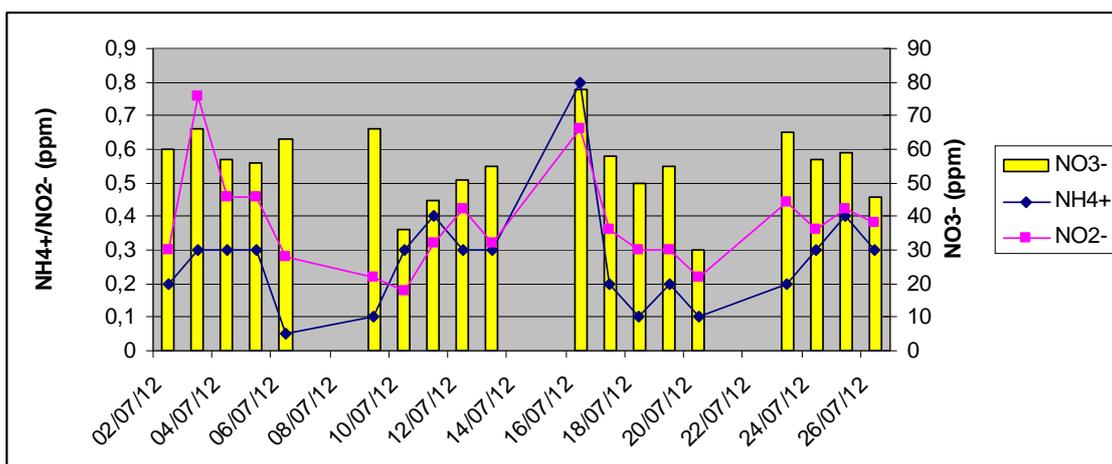


Figura 37. Sala 5. Evolución de los parámetros del agua (agua dulce).



**Figura 38.** Sala 5. Evolución de los compuestos del N en el agua.

Estos datos, unidos a los de pH, O<sub>2</sub> disuelto, redox, temperatura y conductividad suministrados por el SCADA se registraban todos los días en la hoja de control de análisis de aguas.

En las figuras 35-38 puede observarse la evolución de algunos de estos parámetros (temperatura, pH, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) durante el mes de julio. En todos los casos, tales parámetros se mantienen más estables en la sala de agua salada, siendo también en esta sala donde se alcanzan los valores más altos de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

## 2.2 Participación en proyectos desarrollados en el Centro

### *“Revalorización de la biomasa algal obtenida a partir del tratamiento fotosintético de aguas residuales agroalimentarias para su uso en Acuicultura”*

Dentro de este proyecto se contempla el establecimiento de una población de cultivos auxiliares, en este caso daphnia, alimentada de manera diferencial (efluente frente a fitoplancton) para alimentar a su vez larvas de tenca. Por tanto, era necesario crear una población estable de este crustáceo en las instalaciones del Centro, lo que supone a su vez generar alimento para mantener su población (fitoplancton y efluente).

De acuerdo con esto, las tareas realizadas relacionadas dentro de este proyecto fueron las siguientes:

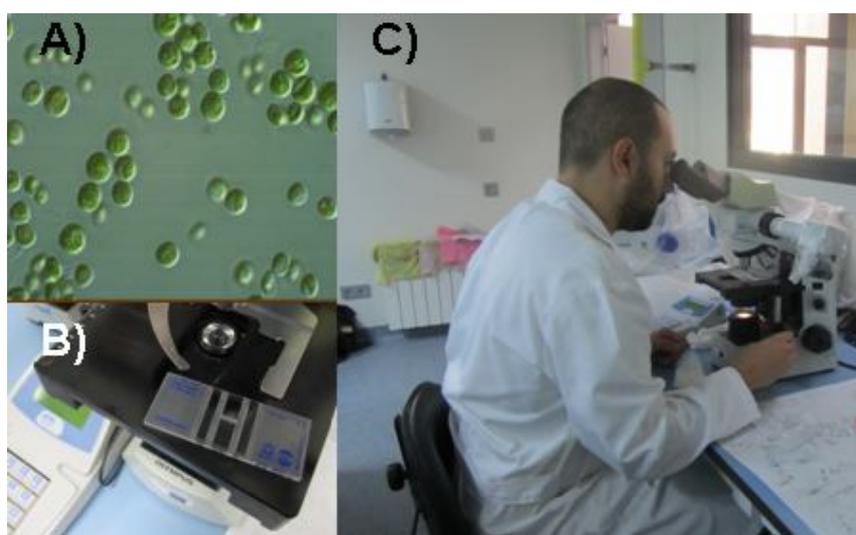
- Cultivo de *Chlorella spp.*

Para el cultivo del fitoplancton se empleaban botellas de 1 o 2 L de capacidad, ocupando un volumen de cultivo de 400 y 800 mL, respectivamente, lo que supone una cámara gaseosa de 6/10 partes.

El medio de cultivo empleado es un medio rico en nutrientes suministrado por el Grupo de Tecnología Ambiental de la Universidad de Valladolid (GTA-Uva). Este medio es suministrado a una concentración de 30 X, por lo que era necesario diluirlo con agua destilada hasta una concentración de 1 X. Una vez hecho esto, se inoculaban 10 mL de microalga (cultivo original proporcionado por GTA-Uva) y se añadían 76  $\mu$ L de HCl por cada 100 mL de medio de cultivo y se cerraba la botella con un tapón hermético.

Una vez establecido el cultivo, el inóculo para la preparación de nuevas botellas era tomado de las botellas preparadas la semana anterior. Además, como se trata de una actividad susceptible de contaminación, todo el material que se empleaba era estéril y se trabaja en cabina de flujo laminar, previa desinfección con etanol al 70 %.

Para llevar un control de la dinámica del cultivo, cada vez que se preparaban las botellas, se realizaba un recuento de células, tanto de una de las botellas preparadas esa semana como de la que se usaba como inóculo inicial. En la realización de este recuento se empleaban el microscopio óptico y la cámara de Bürker. El resultado obtenido era igual a la media de los tres recuentos consecutivos que se realizaban para cada botella y se expresaba en  $10^6$  células/mL.



**Figura 39.** *Chlorella*. A) Células de la microalga *Chlorella spp.*; B) Detalle de la cámara Bürker; C) Proceso de recuento de densidad del cultivo.

Finalizado todo este proceso, las botellas se trasladaban a la estantería iluminada de la Sala de cultivos auxiliares y se depositaban sobre el agitador magnético.



**Figura 40.** Colocación de las botellas de cultivo en la Sala de Cultivos auxiliares.

A iniciativa propia, y como existían datos que atestiguaban que con un volumen de cultivo igual a la mitad del realizado, el proceso era más productivo, se realizó una comparación entre ambos para comprobar si en términos absolutos se mantenía esa mayor productividad.

Para ello, se prepararon 3 botellas de cada volumen a comparar (de 200 y 400 mL para las botellas empleadas de 1 L y de 400 y 800 mL para las botellas empleadas de 2 L). Se mantuvieron bajo las condiciones de cultivo (explicadas en el apartado 1.8 Cultivos auxiliares) durante 3 días, al término de los cuales se procedió al recuento. Los resultados medios obtenidos fueron: en el caso de 200 o 400 mL  $10,4 \times 10^6$  células/mL, en el caso de 400 u 800 mL  $7,6 \times 10^6$  células/mL. Como se puede observar, efectivamente con una cámara gaseosa mayor, la productividad del cultivo también es mayor, pero al multiplicar este resultado por el volumen de cultivo, se obtiene, que en términos absolutos, los cultivos más productivos son los de mayor volumen.

Este hecho constata la importancia de la cámara gaseosa, y más en concreto del CO<sub>2</sub>, para el rendimiento del cultivo (Chiu *et al.*, 2008).

- Mantenimiento de la población de *Daphnia spp.*

Todos los días a primera hora, junto con las muestras de los Tanques de cría, se tomaban las muestras de agua de los tanques de daphnia para los consiguientes análisis.

Los análisis de las especies químicas  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  se realizaban al mismo tiempo y del mismo modo que se hacía con las muestras de los Tanques de cría. Los análisis físico-químicos restantes se realizaban una vez terminadas el resto de tareas del día. Los parámetros determinados en estos análisis eran los siguientes: pH, conductividad, turbidez, dureza (solo los lunes) y temperatura y  $\text{O}_2$  disuelto (ambos se determinan directamente en el tanque). En la Tabla 2 se comparan algunos de los valores obtenidos durante estos análisis con sus óptimos teóricos.

*Tabla 2. Parámetros registrados en el mes de julio en la producción de daphnia.*

PARÁMETRO	N	Mínimo	Máximo	Media	Óptimo
Temperatura	32	21,6	24,5	22,772	20-25
pH	32	8,39	8,91	8,5675	7-8,6
Dureza (mg/L $\text{CaCO}_3$ )	5	378	504	448,00	160-180
Conductividad (mS/cm)	32	0,695	1,496	1,02359	-
Amonio $\text{NH}_4^+$ (mg/L)	32	0,1	9,0	4,244	-
Oxígeno (mg/L)	32	4,3	7,6	5,464	> 6
Fotoperiodo (h)	32	12 luz/12 oscuridad			16/8
Turbidez (UNT)	32	0,00	19,36	5,6697	-



*Figura 41. Medida de la turbidez del agua de los tanques de daphnia.*

Todos estos datos eran registrados en la hoja de control de parámetros físico-químicos del tanque de daphnia.

Para estimar el crecimiento de la población de daphnia y obtener parámetros de producción, se extraía diariamente una muestra representativa de cada tanque. Para ello

se utilizaba un pequeño sifón con el cual se recogía 0,5 L de agua del tanque de producción, intentando que el sifonado se realizara de manera homogénea por toda la columna de agua. Este 0,5 L de agua se pasaba, en múltiples y pequeños volúmenes, a través de un filtro de 130  $\mu\text{m}$  donde quedaban retenidas las daphnias. Después de cada pase, se procedía al recuento y medida de la longitud de las daphnias atrapadas en la malla. Este recuento era realizado a la lupa, empleando como fondo una placa Petri dividida en diferentes secciones coloreadas. Para determinar la longitud, se contaban cuantos cuadrados de malla ocupaba la daphnia y se multiplicaba por 0,13 mm. Después eran clasificadas en tres grupos de acuerdo con los siguientes rangos:

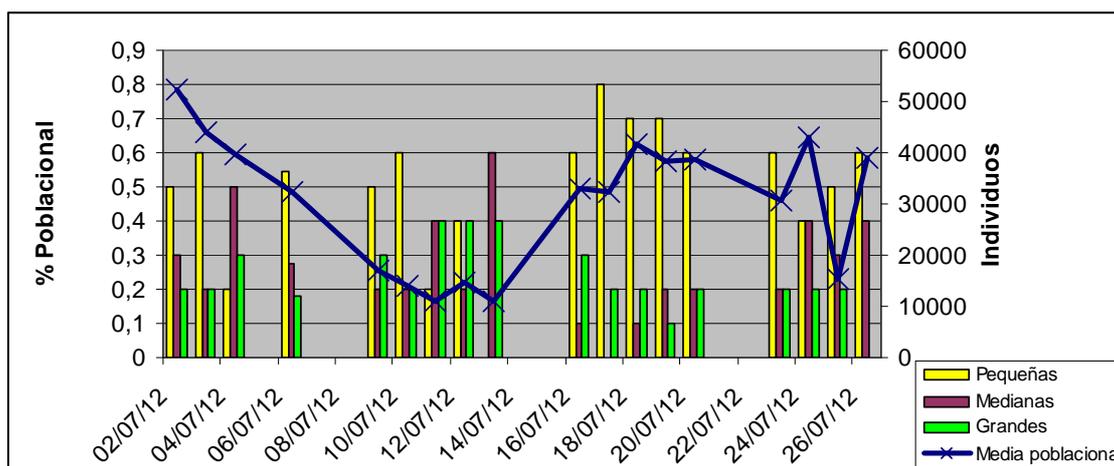


- Pequeñas: 0,39-0,78 mm
- Medianas: 0,91-1,17 mm
- Grandes: 1,3-1,69 mm

**Figura 42.** Imagen a la lupa en la que pueden apreciarse los diferentes rangos de edad.

Con los datos obtenidos se extrapolaba al volumen total del tanque y se calculaba el número medio de individuos de la población.

Como puede observarse en la *Figura 43*, esta población sufrió dos pronunciados descensos en lo referente al número medio de individuos que la compone. Dichos descensos fueron debidos a que, en uno de los tanques alimentados con efluente de trucha, cesó la aireación de manera accidental, lo que unido a la película que este efluente forma en la superficie del agua, generó un ambiente anóxico letal para la subpoblación contenida en este tanque. En esta misma figura también se observa que los picos de recuperación de la población coinciden con altos porcentajes poblacionales de individuos en edad reproductora (Medianas y Grandes), lo que supone un posterior incremento del porcentaje de individuos jóvenes (Pequeñas).



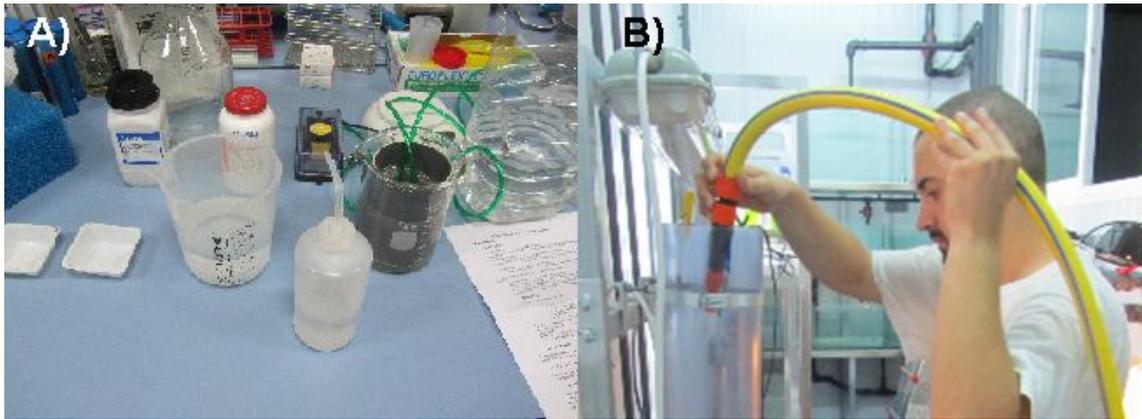
**Figura 43.** Población de daphnia. Evolución del número total de individuos y porcentaje poblacional que supone cada rango de edad.

- Descapsulación y eclosión de artemia

Durante la estancia en el Centro únicamente se llevo a cabo una prueba de descapsulación y posterior eclosión de quistes de artemia.

Para ello, se preparó un volumen de aproximadamente 500 mL de agua dulce templada contenido en un vaso de precipitado. A continuación, se pesó una cantidad de quistes equivalente a 1 g, y con la ayuda de un instrumento formado por un cilindro de PVC y una malla de 100  $\mu\text{m}$  (facilita su posterior recolección), se introdujeron en el recipiente. Los quistes, bajo condiciones de fuerte aireación, se mantuvieron en hidratación durante 75 minutos.

Mientras los quistes se estaban hidratando se procedió a la preparación del artemiero. Esta preparación implicaba: llenar el artemiero con aproximadamente 5 litros de agua, añadir 150 g de sal marina gorda (salinidad de 30 ‰), atemperar el agua a 30 °C con un calentador, introducir un termómetro para controlar esta temperatura, conectar la lámpara superior para iluminar el artemiero y activar la aireación inferior.



**Figura 44.** *Eclosión de artemia. A) Material necesario para la eclosión de los quistes; B) Preparación del artemiero.*

Una vez transcurrieron los 75 minutos de hidratación, se procedió a la descapsulación siguiendo el siguiente procedimiento:

- En un vaso de precipitado de 1 L se preparó una disolución al 50 % de agua y lejía (225 mL de lejía y 225 mL de agua dulce).
- En un vaso de precipitado pequeño se añadieron 75 mL de agua destilada y se disolvieron en ella 7,5 g de NaOH.
- Se mezclaron ambas disoluciones en el vaso de precipitado de 1 L, se le suministró aireación y se introdujo el instrumento filtrante que retenía los quistes en su interior.

Tras 13-14 minutos finalizó la descapsulación, lo cual vino indicado por el cambio de color de los quistes (de un tono marrón a un color anaranjado intenso).

Después, los quistes se lavaron abundantemente bajo el grifo y se sumergieron en un vaso de precipitado con 500 mL de agua dulce y 0,5 g de tiosulfato para neutralizar la lejía. Tras 5 minutos en esta disolución, los quistes se volvieron a lavar abundantemente bajo el grifo y se trasladaron al artemiero preparado previamente para su eclosión.

Transcurridas 24 horas, se procedió al recuento de un volumen de agua de 2 mL, obteniendo una media de 61 nauplios y 7 embriones sin eclosionar, lo que supuso una eficiencia de eclosión de 152500 nauplios/g y un porcentaje de eclosión de 89,7 %.

- Prueba de fecundación artificial en tenca

Como primer paso dentro del establecimiento de la futura línea de reproducción de tenca en las instalaciones del Centro, el pasado 27-6-2012 se llevó a cabo la primera y hasta ahora única prueba de fecundación artificial.

Los animales empleados en dicha prueba ya habían sido inducidos hormonalmente, por lo que las tareas realizadas se corresponden, dentro del procedimiento a seguir, con las llevadas a cabo desde la extracción de gametos en adelante.

Las extracciones de gametos se realizaron como se explica a continuación:

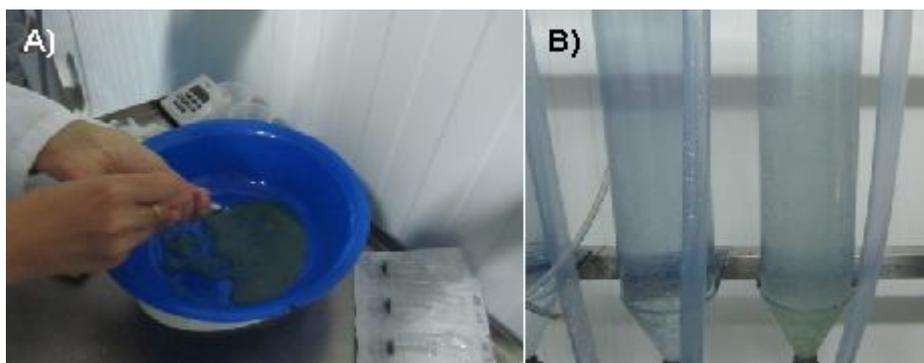
El grupo de hembras al que se le extrajo la hueva se depositaron en un capazo con O<sub>2</sub> y anestésico.

Una vez sedadas, cada hembra era pesada y secada antes y después de cada extracción, prestando especial atención a las aletas pelvianas y al poro genital. Después, se sujetaba con firmeza con una mano y con la otra se presionaba ligeramente el abdomen con pasadas sucesivas en sentido cabeza→cola para extraer la hueva y recogerla en un recipiente para su posterior pesaje.

Los machos seleccionados no fueron anestesiados y al igual que las hembras se les secó antes de la extracción prestando especial atención a las aletas pelvianas y al poro genital (para evitar la activación del esperma). Después, mientras una persona sujetaba al animal y realizaba el masaje abdominal en el mismo sentido que anteriormente, otra recuperaba el semen con una jeringa.

Una vez obtenidos, los gametos se mezclaron en el recipiente que contenía la hueva, se añadieron 100 mL de agua y se homogeneizó la mezcla suavemente con los dedos. Se dejó en reposo absoluto durante dos minutos y se añadió una solución de alcalasa al 16 %, dejándola actuar durante 45 segundos. A continuación, se lavó abundantemente con agua 3 veces, cuidando de que los huevos no quedaran descubiertos de líquido.

Finalmente, los huevos se distribuyeron en el montaje de botellas Zoug acondicionado especialmente para esa ocasión (tras esta prueba se desinstaló para modificar su diseño).



**Figura 45.** Fecundación artificial de tenca. A) Mezcla de gametos masculinos y femeninos; B) Proceso de incubación en botellas Zoug.

Resultados obtenidos.

A las dos horas se observaron algunos huevos a la lupa sin contemplar signos evidentes de fecundación, lo que pudo estar motivado por un proceder demasiado lento en el desarrollo de la prueba, ya que en esta tarea el tiempo es un factor fundamental (Zamora, com. pers.).

#### ***“Evaluación de parámetros productivos en dorada (*Sparus aurata*) durante la fase de engorde en SRA”***

- Muestreos quincenales

Cada dos semanas, en las dos salas en las que se producía dorada (Sala 2 y 3), se realizaban sendos muestreos para obtener los datos biométricos que permiten determinar los parámetros productivos. Ese día se cancelaban todas las tomas y los animales permanecían en ayunas. Además, se posponían la limpieza del suelo de la sala y la administración de O<sub>3</sub> hasta que terminara el muestreo.

Durante la realización de estos muestreos, en los que intervenían 3 personas (1 técnico y dos becarios) se llevaron a cabo las siguientes actividades:

Se tomaban dos capazos limpios, procedentes de la sala que se estaba muestreando, y el tanque portátil de 200 L. Los capazos se llenaban con 30 L de agua y el tanque con 120 L. Como el agua empleada era agua del circuito, se desechaba el primer agua que salía del separador para evitar que estuviera demasiado sucia.

A cada recipiente se le añadía una dosis de 20 mg/L de anestésico MS222 (tricaína metanosulfato). Durante la anestesia (aproximadamente 15 minutos), los peces tenían un

aporte continuo de O<sub>2</sub>, facilitado por unos difusores auxiliares conectados a la salida de oxígeno del sistema de ozonización.



*Figura 46. Doradas en el tanque de sedación durante uno de los muestreos.*

Se despescaban los peces de un tanque y se trasvasaban a uno de los recipientes. Mientras el anestésico comenzaba a surtir su efecto, se despescaban los peces del tanque siguiente y se trasvasaban a otro recipiente. Como el número de peces contenido en los tanques era demasiado grande para un solo capazo, se repartían entre los dos capazos. Cuando se terminaba de despescar los peces del segundo tanque, se comprobaba el estado de los peces del primero, y si ya estaban sedados se comenzaba el muestreo del primer tanque.

El muestreo consistía en obtener la biomasa correspondiente a cada uno de los tanques, pesando los animales en una báscula electrónica en tandas de 6. Además, se registraba la longitud y el peso de tres animales escogidos al azar para calcular el factor de condición.

Cuando se terminaba con el muestreo del primer tanque, y se habían devuelto los peces a su tanque de origen, se comenzaba a despescar los peces del tercer tanque, los cuales se trasvasaban al primer contenedor, y se repetía todo este proceso de forma sucesiva hasta completar todos los tanques de la sala. Era importante tener en cuenta a qué tanque corresponde cada animal/es despescado/s para no equivocarse ni en el trasvase ni en el muestreo, ya cada tanque tenía asignada una dieta experimental diferente.

- Parámetros productivos

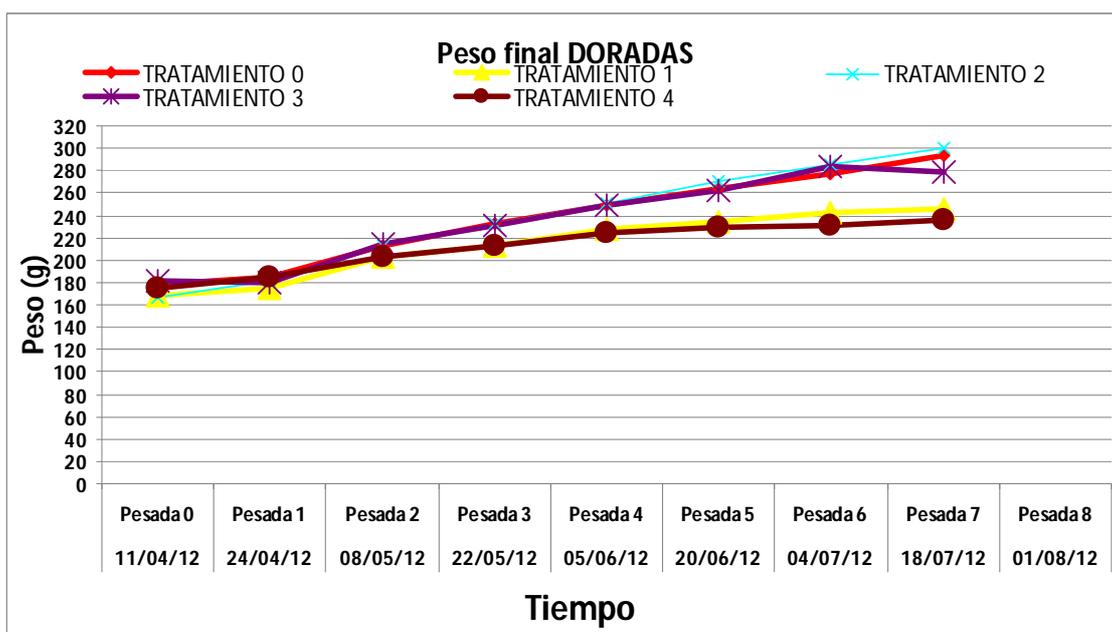
Una vez realizado el muestreo, los datos obtenidos (incluyendo la biomasa correspondiente a las bajas registradas entre el presente muestreo y el anterior), unidos a los datos referentes a la alimentación (ingesta diaria y acumulada), eran introducidos en una hoja de cálculo para determinar los parámetros productivos de incremento de biomasa, Tasa de Alimentación Diaria (TAD), Tasa de Crecimiento Instantáneo (TCI) e Índice de Conversión (IC).

Vol Tanque (m <sup>3</sup> )		INICIO ENSAYO																
SALA TANQUE		1904/2012				2404/2012				Nº días								
ST	Tratamiento	B (g)	Nº peeces	P (g)	kg/m <sup>3</sup>	B (g)	Nº peeces	P (g)	Nº peeces m	kg/m <sup>3</sup>	Bm	Moz	I ac	Δ B01	IRB01	TCI	TAD	IC
21	2	288,5	13	186,9	4,3	2388,5	13	184	0	4,8	0,0	0,00	380	220,0	10,1	0,74	1,21	1,84
22	3	2133	13	184,1	4,3	2394,5	13	181	0	4,8	0,0	0,00	380	261,5	12,3	0,89	1,22	1,38
23	1	2398	14	171,3	4,8	2537	14	181	0	5,1	0,0	0,00	320,4	139,0	5,8	0,43	1,00	2,31
24	2	2068	13	159,1	4,1	2462,5	13	199	0	4,9	0,0	0,00	380	294,5	19,1	1,34	1,22	0,91
25	0	2466,5	14	175,2	4,9	2686	15	178	0	5,3	0,0	0,00	380	199,5	8,1	0,07	1,08	1,80
26	0	2473,5	13	180,3	4,9	2694	13	207	0	5,4	0,0	0,00	380	220,5	8,9	0,68	1,07	1,63
27	4	2252	14	180,9	4,5	2887,5	15	191	0	5,7	0,0	0,00	380	615,5	27,3	1,33	1,08	0,58
28	1	2097,5	13	181,3	4,2	2034,5	11	185	1	4,1	173,2	7,63	320,4	180,2	5,3	1,05	1,14	2,91
29	4	2481,5	13	189,3	4,8	2634,5	14	188	0	5,3	0,0	0,00	380	179,0	7,0	-0,05	1,09	2,06
210	3	2417,5	13	188,0	4,8	2311,5	12	193	1	4,6	189,3	7,69	380	83,3	3,4	0,27	1,13	4,32
<b>VALORES MEDIOS</b>		22937,0	133	173	4,6	24991,5	133	188	2	5,0	360,8	1,50	3520,8	2415,1	10,5	0,66	1,12	1,46
31	1	3484,5	20	174,2	7,0	3027	19	159	1	6,1	168,8	5,00	822	-290,7	-8,3	-0,69	1,20	-1,80
32	3	3479	19	183,3	7,0	2988	19	160	1	5,8	176,9	5,56	594,6	-414,1	-11,9	-1,43	1,32	-1,36
33	X																	
34	2	3551	20	177,6	7,1	3320,5	19	175	1	6,6	176,2	5,00	581,6	-54,3	-1,5	-0,12	1,23	-0,33
35	0	3693,5	22	167,9	7,4	3341	20	167	2	6,7	334,9	9,09	581,6	-17,6	-0,5	-0,04	1,17	-31,98
36	X																	
37	X																	
38	X																	
39	4	3337,5	19	175,7	6,7	3126	18	174	1	6,3	174,7	5,26	421,2	-38,8	-1,1	-0,09	0,98	-11,43
310	X																	
<b>VALORES MEDIOS</b>		17545,5	99	177,7	7,0	15702,5	94	167	6	6,3	1034,3	6,06	2629	-988,7	-4,6	-0,49	1,19	-3,25
<b>CTC</b>																		
<b>CTC</b>																		
Tr media		23,9																
Tr efectiva		13																

Figura 47. Registro del muestreo de doradas.

La tarea realizada en este punto consistió en colaborar en la obtención de estos parámetros, aportando los conocimientos obtenidos al respecto durante la realización del Máster. Los resultados se registraban en la base de datos para, una vez terminado el proyecto, realizar el correspondiente análisis estadístico.

Aunque aún no se poseían todos los datos de crecimiento y a pesar de que estos datos eran confidenciales, desde la dirección del Centro se permitió la presentación de la siguiente figura (Figura 48). En esta figura se puede observar, a priori y sin la realización del análisis estadístico necesario, dos grupos bien diferenciados. En el primero, parece ser que es con la dieta 2 con la que se consigue un mayor peso final, aunque con la dieta control se obtiene un resultado muy similar. En el segundo grupo, se encuentran los tratamientos que registran los peores resultados, alcanzándose un peso final muy parecido con ambas dietas.



**Figura 48.** Comparación de la evolución del peso de los animales en función del tratamiento recibido.

**“Estudio de indicadores de estrés en condiciones experimentales frente a condiciones de producción intensiva en trucha arco-iris (*Onchorhynchus mykiss*)”**

- Muestras cada tres semanas

El procedimiento empleado a la hora llevar a cabo el muestreo, tanto en la piscifactoría como en el Centro, era prácticamente el mismo (la única salvedad era que en la piscifactoría los 15 peces de cada tipo de densidad procedían de un único estanque). En ellos intervenían 4-5 personas (2 técnicos y 2 becarios + analista) y se seguía el procedimiento que se expone a continuación:

1º Se tomaban dos capazos limpios, procedentes de la sala que se estaba muestreando, y el tanque portátil de 200 L. Los capazos se llenaban con 30 L de agua y el tanque con 120 L. Como el agua empleada era agua del circuito, se desechaba el primer agua que salía del separador para evitar que estuviera demasiado sucia.

En el caso de la piscifactoría, los capazos utilizados también pertenecían al Centro y el agua empleada era de los estanques de cría.

2º A cada capazo se le añadía una dosis de 20 mg/L de anestésico MS222 (tricaína metanosulfato). Durante la anestesia (aproximadamente 15 minutos), los peces tenían un

aporte continuo de O<sub>2</sub>, facilitado por unos difusores auxiliares conectados a la salida de O<sub>2</sub> del sistema de ozonización o a la salida de O<sub>2</sub> del sistema de la piscifactoría.

3º Se despescaban 6 peces de cada tanque y se trasvasaban a uno de los recipientes. Mientras el anestésico comenzaba a surtir su efecto, se despescaban los 6 peces de los dos tanques siguientes y se trasvasaban a los otros dos recipientes. Cuando se terminaba de despescar los peces del tercer tanque, se comprobaba el estado de los peces del primero, y si ya estaban sedados se comenzaba el muestreo del primer tanque.



**Figura 49.** Truchas arco-iris de uno de los tanques de la Sala 5.

El muestreo consistía en obtener el peso y la longitud correspondiente a 5 animales (se despescaban algunos de más por si en algún caso no se conseguía extraer la muestra), y a continuación practicarles un sangrado para obtener muestras de sangre. La punción se practicaba en el péndulo caudal a la altura de la línea lateral y con la jeringa en posición vertical. El volumen de sangre extraído estaba en torno a 0,7 mL.

Para practicar este sangrado, las jeringuillas (con aguja incluida) y los tubos eppendorf eran previamente heparinizados y conservados en refrigeración hasta su uso. Además, los eppendorf iban rotulados con un número del 1 al 30 para tener cada muestra identificada, ya que con antelación se asignaba a cada número si iba a hacer referencia a un animal mantenido en baja o en alta densidad.

Una vez extraída la sangre se depositaba en su tubo correspondiente y se mantenía en refrigeración. Para evitar hemolizar la muestra la jeringa se vaciaba sin aguja y por las paredes del tubo.

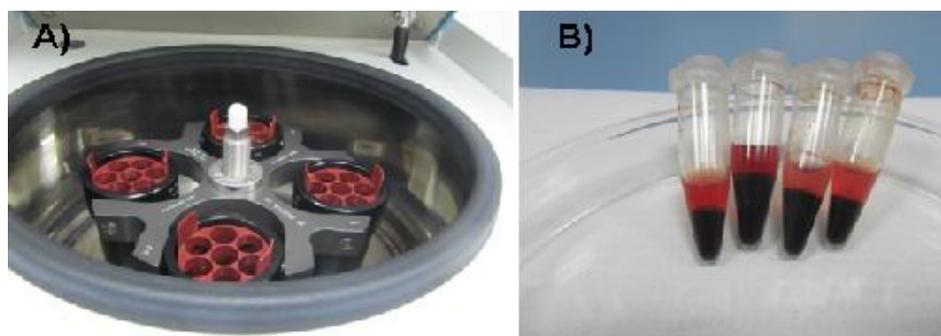
Cuando se terminaba con el muestreo del primer tanque, y se habían devuelto los peces a su tanque de origen, se comenzaba a despescar los peces del cuarto tanque, los cuales se trasvasaban al primer contenedor, y se repetía todo este proceso de forma sucesiva hasta completar todos los tanques de la sala. Era importante tener en cuenta a qué tanque corresponde cada animal/es despescado/s para no equivocarse ni en el trasvase ni en el muestreo, ya cada tanque tenía asignada una densidad diferente.

#### - Procesado de las muestras

Tras recolectar todas las muestras, éstas debían ser centrifugadas para obtener el plasma sanguíneo en el que analizar los indicadores de estrés. Las condiciones de centrifugación eran 6000 g durante 20 minutos a 4 °C.

Cuando esta centrifugación se realizaba en el Centro se empleaba la centrífuga refrigerada, pero cuando se realizaba en la piscifactoría, se empleaba la centrífuga portátil en una sala de refrigeración de su línea de comercialización.

Si una vez centrifugada la muestra la fase plasmática aparecía opaca y coloreada por la suspensión y/o rotura de eritrocitos se volvía a centrifugar. Si tras la segunda centrifugación el aspecto de la muestra seguía siendo opaco se desechaba. Si por el contrario, y como solía ocurrir, la fase plasmática obtenida resultaba satisfactoria, 400  $\mu\text{L}$  eran trasvasados a otro eppendorf previamente etiquetado, y de ahí era alicuotado en muestras de 50  $\mu\text{L}$  a tres eppendorfs diferentes, uno para cada tipo de análisis, almacenándose a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  a la espera de ser analizados.



**Figura 50.** *Procesado de las muestras obtenidas en los muestreos de trucha. A) Detalle de la centrífuga; B) Muestras de plasma contaminadas con eritrocitos.*

Para el análisis plasmático de glucosa y lactato se emplean sendos kits comerciales y se obtienen los resultados por espectrofotometría. Para el análisis de cortisol se emplea un ELISA y los resultados también son obtenidos por espectrofotometría.

### **2.3 Actividades puntuales**

#### **- Diagnóstico patológico**

Excepcionalmente, como consecuencia de la detección de un comportamiento natatorio anormal y un decaimiento de la actividad de las truchas en la Sala 5, se realizó un diagnóstico patológico del tanque afectado. Además, el relativamente reciente brote de punto blanco que sufrió esa sala y el hecho de que tales signos fueran observados en una tanque de alta densidad, recomendaban enérgicamente la toma de esta medida.

En primer lugar se realizó un análisis externo visual para determinar si se apreciaba algún síntoma sospechoso de que se tratara de punto blanco, si existía alguna variación de color o se detectaba alguna herida. No se observó nada anormal en esta inspección visual.

A continuación se realizaron un frotis de mucus y un raspado de piel, este último empleando hidróxido de potasio (KOH) al 10 %, sin obtener ningún resultado aparente.

Después se observaron las branquias y se tomó una muestra de su extremo distal para realizar un frotis con suero fisiológico y KOH al 10 %. En esta ocasión tampoco se detectó problema alguno.

Al no aportar ninguno de estos análisis dato alguno que explicara los signos observados, se optó por realizar un cultivo bacteriano tomando muestras de hígado y riñón anterior.

Para ello, se practicó una pequeña incisión con el bisturí por delante del ano y se cortó con las tijeras abriendo al animal en dirección hacia la cabeza. Con un asa de siembra desechable para cada órgano diana, y bajo la llama de un mechero Bunsen, se introdujo su parte punzante en cada uno de ellos y se sembraron sendas placas Petri con medio genérico TSA. Una vez sembradas las muestras, se mantuvieron a temperatura de incubación de 22 °C durante 48 h en estufa sin observar crecimiento alguno.

Al día siguiente se realizaron un par de visitas a ese tanque para comprobar cómo se encontraba y las alteraciones etológicas observadas el día anterior habían desaparecido,

por lo que no se dio mayor importancia a este suceso, suponiendo que podría ser debido a una posible subida de la temperatura del agua.

## **2.4 Visitas a otros Centros de Investigación y empresas**

Durante el periodo de tiempo que duró la estancia en el Centro para realizar las prácticas, se realizaron dos visitas a otras instalaciones que no pertenecen al Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina.

La primera de estas visitas se realizó al Centro de Pruebas de Porcino, también perteneciente al Itacyl y localizado en el municipio segoviano de Hontalbilla. Tras un paseo por sus instalaciones, apoyado en todo momento por las pertinentes explicaciones de los responsables del Centro, se ofreció una charla informal sobre los proyectos que se habían llevado a cabo y los que estaban en marcha en ese momento. Al término de la misma, uno de los trabajadores realizó una pequeña exposición de las fotografías de esperma porcino más curiosas con las que contaba en su archivo.

La segunda visita se trata de la visita a la piscifactoría Ipeasa S.A., también localizada en un municipio segoviano, en este caso Fuentidueña.



*Figura 51. Imagen de uno de los estanques de trucha de la piscifactoría IPEASA.*

Además de para realizar el ya comentado muestreo de truchas integrado en uno de los proyectos del Centro, la visita sirvió como ejemplo de cómo se organiza la producción y cuáles son los diferentes espacios y elementos con los que cuenta una piscifactoría de producción intensiva de trucha, todo ello apoyado por los consiguientes comentarios y explicaciones de uno de los propietarios de la empresa.

### **3. Posibles mejoras**

A continuación, se sugieren una serie de posibles mejoras susceptibles de ser aplicadas en todo lo concerniente al trabajo desarrollado en el Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina. Una parte de ellas están basadas en los conocimientos adquiridos en las distintas materias impartidas en el Máster, otras en la información revisada al respecto y, por último, otras más subjetivas basadas en observaciones e impresiones recogidas durante la estancia de prácticas.

#### **A. Seguridad laboral**

A pesar de contar con un manual sobre Normas básicas de seguridad en laboratorios para la prevención de riesgos laborales, los siguientes puntos en referencia a la seguridad laboral no se cumplen como debieran:

- Durante el mantenimiento de las salas se está en contacto con productos que pueden producir irritación en las vías respiratorias tales como el bioxán o el O<sub>3</sub>, y no se proporciona ningún medio de protección respiratoria para evitar estas irritaciones. Por tanto, sería necesario la existencia de mascarillas puestas a disposición del personal de trabajo para evitar posibles problemas relacionados con estos productos.
- De igual manera, durante la realización de las labores rutinarias, la ropa de trabajo puede ensuciarse con mucha facilidad, transportando en ellas contaminantes químicos o biológicos. De acuerdo con esto, sería aconsejable proporcionar ropa de trabajo adicional para contar con dos juegos, así cuando uno esté sucio se podrá emplear el otro hasta el lavado del anterior.

## B. Automatismos

En algunas ocasiones el SCADA no actualiza correctamente las ordenes enviadas desde los paneles de control localizados en cada sala, lo que hace necesario el reinicio de su software, o saltan falsas alarmas que no se corresponden con valores situados fuera de los rangos que determinan las mismas. Para solucionar este hecho, sería necesario realizar una revisión técnica para poner a punto este sistema, ya que la existencia de automatismos que no funcionan correctamente puede convertir lo que se supone que es una ventaja por aliviar la carga de trabajo en un inconveniente.

Como ya se explicó en el apartado de Alimentación: Control de comederos (Apartado 2.1), los comederos mecánicos de tambor automatizados daban problemas a la hora de administrar cada una de las dosis que componían la ración diaria de alimento de los peces. La utilización de comederos autodemanda evitaría estos problemas y permitiría calcular de forma mucho más exacta la cantidad de pienso ingerido por diferencia de pesadas del contenido de la tolva.

## C. Incorporación/adquisición de nuevos sistemas, aparatos o elementos y/o nueva localización/mejora de los ya existentes:

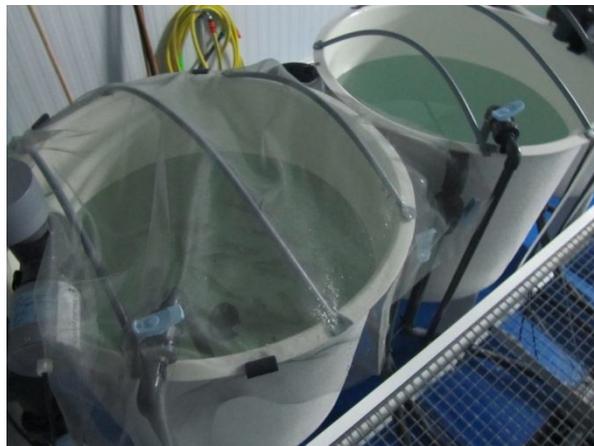
La inexistencia de un sistema de ventilación es una de las principales faltas de las que adolece el Centro. Al no tener instalado un sistema de este tipo, la humedad es excesiva, generando la aparición de moho por varios rincones de la instalación (paredes, techos...) y pudiendo afectar al buen funcionamiento y a la vida útil de los aparatos, así como comprometer las condiciones experimentales de las salas de experimentación. Por todo esto, sería muy aconsejable la instalación de un sistema de ventilación adecuado que permita solucionar este tipo de problemas.

Otro de los problemas importantes en cuanto al diseño y localización del Centro, radica en el lugar donde se alojan los sistemas de aclimatación. Sacando estos sistemas al pasillo que existe tras la pared del panel de control de cada sala, se rebajaría el nivel de humedad que afecta a su funcionamiento y se alargaría la vida útil de estos aparatos.

Dentro de lo posible, y si fuera factible, quizá se podría acometer la apertura de alguna entrada de luz natural en alguna sala. De esta manera, se podría permitir la variación que se da en la intensidad de luz durante las primeras y últimas horas del día, pudiendo

aproximar un poco más las condiciones de la sala a las que existen en la naturaleza (solo si esto formara parte de las condiciones de trabajo en alguno de los estudios desarrollados en el Centro). Si se llevara a cabo tal modificación, quizá fuera necesario un sistema de persianas para evitar la entrada de luz en experimentos de control de la reproducción, en los que puede ser necesario instaurar un fotoperiodo artificial. Si todo esto no fuera factible, existe la opción de consultar sobre la posibilidad de instalar un sistema de iluminación, con encendido progresivo o secuencial, que permitiera imitar estas variaciones de luz de amanecer y anochecer.

A los Tanques de cría se les incorporó unos arcos de PVC en su parte superior para sujetar las redes que evitan los escapes de peces fuera del tanque. Estos arcos suponen una molestia y alargan el proceso de despesque de los peces durante los muestreos, por lo que sería aconsejable sustituirlos por otro tipo de dispositivo. Quizá se pudiera emplear una tapa de plástico para los tanques, en la que su parte superior esté formada por una malla. Así se evitarían los escapes y sería posible controlar el estado de los peces.



*Figura 52. Detalle de los arcos de PVC que sostienen las redes antiescapas.*

En cuanto a los aparatos empleados para registrar los diferentes datos físico-químicos en el análisis de aguas, quizá fuera aconsejable sustituir el oxímetro potenciométrico que actualmente posee el Centro, por uno óptico más eficiente y de mantenimiento mucho menos costoso.

#### D. Maduración del biofiltro

Debido al largo tiempo que tarda en madurar el biofiltro en agua salada (135 días sobre los aproximadamente 30 que suele tardar en condiciones naturales; Martínez, com. pers.), se propone realizar una comprobación mediante consulta de fuentes bibliográficas o a expertos en las especies de bacterias empleadas en este proceso, para conocer si existe algún componente en la sal marina artificial para producir este agua salada que pueda ralentizar la dinámica bacteriana y con ello la maduración del biofiltro. Si fuera posible relacionar este hecho con alguna causa concreta, se actuaría en consecuencia, bien seleccionando una marca alternativa, bien aceptando con resignación la ausencia de una solución.

#### E. Bienestar animal

En algunas tareas llevadas a cabo durante los muestreos, como son algunos sangrados de trucha y la extracción de esperma a las tencas, no se toman las medidas correspondientes para reducir el estrés asociado al manejo animal, aún más recomendables por tratarse de acciones realizadas fuera del agua y con especies tan sensibles como la tenca. Por lo tanto, se recomienda el empleo de anestésico en todo proceso que pueda suponer un estrés para el animal.

Como en el Centro se da el caso de trabajar con una especie tan susceptible a las condiciones del entorno como es la tenca, se recomienda la adaptación de los tanques para maximizar el bienestar animal, lo cual redundará beneficiosamente en los estudios basados en esta especie. Para conseguir esto, sería necesario emplear tanques de cría con tonalidades oscuras y contruidos con materiales tipo loneta, los cuales se adaptan mejor a los requerimientos de la tenca en algunas de sus fases vitales, como por ejemplo la de alevín (Jambrina, com. pers.).

Al pretender criar en el Centro especies lucífugas o tímidas, en al menos algunas de sus fases de desarrollo (como es el caso de la trucha arco-iris y de la tenca, y especialmente en la fase de alevinaje), quizá no sea una buena opción alojar los tanques de cría de alevines junto a la estantería iluminada de producción de fitoplancton (Sala de cultivos auxiliares). En este caso, quizá fuera más recomendable alojarlos en una sala con una iluminación menos intensa, como por ejemplo la de cría larvaria (Sala 7).

## F. Sanidad animal y control de patologías

Sería muy recomendable la realización de un análisis patológico rutinario y de las bajas registradas dentro de cada sala. En caso de que este análisis conllevara un sacrificio animal, que por las condiciones en que se encuentra el estudio, no se pueda asumir, se debería realizar únicamente un análisis de las bajas o de las bajas más alguno de los animales desechados del experimento (por ejemplo cuando se despesca para mantener una determinada densidad).

## G. Propuestas para la realización de algunas tareas y procedimientos de trabajo

Para facilitar el proceso de análisis de aguas y localizarlo físicamente en un área concreta del laboratorio, se podrían unificar todas las determinaciones asociadas al mismo en una única sala, trasladando todos los aparatos, kits y reactivos empleados al laboratorio químico, por ejemplo.

A pesar de que cada baja es pesada una vez extraída del tanque, a la hora de determinar los parámetros productivos que incluyen la biomasa de los muertos (TAD e IC), se emplea la biomasa estimada en función al peso medio de los peces en el momento en que se registro la baja. Puesto que se conoce la fecha en que se registra la baja y se posee el dato real de su peso, sería más conveniente emplear datos reales para la determinación de esta biomasa, ya que el resultado obtenido sería más próximo a la realidad.

Cuando se alimenta a las daphnias con el cultivo de fitoplancton, se vuelca en el tanque todo el contenido de las botellas de cultivo. Al hacerlo de este modo, se está añadiendo también el medio de cultivo para la microalga, el cual posee carbonatos que con la adición de HCl generaran el CO<sub>2</sub> necesario para su crecimiento. Este medio de cultivo contribuye a incrementar el pH y la dureza del agua del tanque de producción de daphnia, por lo que sería conveniente realizar un filtrado previo con una rampa de filtración para concentrar las células de *Chlorella spp.* y desechar el medio. Haciendo esto, incrementando el O<sub>2</sub> suministrado y regulando mejor el fotoperiodo, las condiciones de producción del tanque de daphnia se asemejarán más a los óptimos teóricos.

A la hora de realizar la descapsulación de quistes de artemia, y contemplando la más que probable posibilidad de incrementar la cantidad de gramos descapsulados por encima de los 2 g actuales, quizá fuera aconsejable abandonar el método de la proporción al 50 % de la mezcla agua lejía y sustituirle por el método basado en el Índice de refracción de la lejía. Con este método se podría obtener una mayor eficiencia de eclosión y supondría un ahorro en el gasto de la lejía empleada para descapsular.

Durante la reproducción artificial de tenca, y para evitar dañar al huevo por un descuido en el tiempo de aplicación del baño de alcalasa, se podría sustituir esta enzima por una mezcla de leche y agua en una proporción de 4:1 durante 30 segundos, ya que este tratamiento es igualmente efectivo, menos agresivo y no es necesario ser tan cuidadoso con el tiempo de aplicación (Cerdà, com.pers.).

#### **4. Valoración personal**

Las prácticas del Máster Interuniversitario de Acuicultura, realizadas en el Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina, han resultado muy provechosas para mi formación. Han supuesto el complemento perfecto a la formación teórica recibida en el Máster, permitiéndome aplicar todos estos conocimientos en la parcela práctica de dicha actividad. Sin embargo, al mismo tiempo he aprendido que a veces no es posible o práctico aplicar la teoría al trabajo de una manera estricta, sino que se pueden realizar adaptaciones, en las que puede ser necesario aplicar el ingenio, para superar los problemas que se plantean en el “día a día”.

En relación a la aplicación práctica de los conocimientos obtenidos en el Máster, a continuación, procederé a presentar cuáles de estas asignaturas han resultado a mi juicio, más provechosas para afrontar el trabajo a desempeñar durante la estancia en el Centro.

En la conformación de una visión global de todo el proceso, aportando el conocimiento necesario sobre cada una de sus fases y facilitando su comprensión, ha jugado un papel fundamental la asignatura de Acuicultura, ya que se podría definir como un pequeño resumen integrador de toda esta actividad.

A la hora de comprender la disposición y el funcionamiento de todos los elementos presentes en el sistema (filtros, biofiltros, bombas...) y cuáles son las principales características y ventajas de un SRA, los conocimientos aportados por la asignatura de Ingeniería de sistemas han resultado esenciales. Esta misma asignatura, también me permitió reconocer todos los elementos presentes en la piscifactoría de truchas durante la visita realizada a sus instalaciones, así como por qué los estanques estaban distribuidos de una u otra manera.

En lo referente al estado y análisis del agua empleado en la cría y mantenimiento de los peces, la asignatura de Calidad del agua me ha aportado los conocimientos necesarios para entender por qué se tomaban las muestras de una u otra manera, la relación existente entre algunos de los parámetros determinados o en qué se basa el funcionamiento de los aparatos empleados para la determinación de estos parámetros.

En la comprensión de por qué hay que mantener una determinada especie bajo unas determinadas condiciones ambientales, cómo y por qué contribuyen al bienestar animal, cómo puede detectarse este bienestar, por qué posee unos requerimientos alimenticios u otros o a qué pueden deberse algunos comportamientos, han sido esenciales las asignaturas de Zoología aplicada y Fisiología aplicada.

En todo lo concerniente a la alimentación, desde el tipo de presentación, composición y propiedades del pienso, cuáles son y cómo se realizan los análisis de los nutrientes que contiene o la determinación de su ración diaria, hasta cómo estimar el crecimiento de los peces o cómo calcular los diferentes parámetros productivos, las asignaturas de Nutrición y Alimentación y Diseño y Gestión de Instalaciones Acuícolas, me han aportado una sólida base para afrontar con garantías todas las situaciones en las que se requería este tipo de conocimientos.

Para poder desenvolverme con soltura, y reconocer y saber poner en práctica algunas de las técnicas de producción de especies auxiliares empleadas en acuicultura, me han resultado de gran utilidad los conocimientos obtenidos en la asignatura de Cultivos auxiliares.

En cuanto a las actividades de reproducción animal llevadas a cabo en el Centro, los conocimientos aportados por la asignatura de Reproducción sobre los diferentes desarrollos de maduración gonadal, su relación con el manejo y gestión del evento reproductivo, los controles ambiental y hormonal de la reproducción o sobre actividades

integradas en la reproducción artificial de una especie, han sido esenciales para el cumplimiento de las tareas incluidas dentro de esta parcela.

A la hora de reconocer las principales amenazas patógenas que pueden comprometer la sanidad animal, cómo actúan y cómo se debe proceder para detectarlas y combatir las (análisis comportamiento, diagnóstico patológico, medidas preventivas y de corrección...), la asignatura de Patología, me ha aportado los conocimientos necesarios para poder desempeñar en el Centro tareas de este tipo cuando ha sido preciso.

Por último, la asignatura de Acuicultura sostenible ha reafirmado mi convicción de que es necesario desarrollar políticas responsables y ambientalmente sostenibles, basadas en la reducción de los residuos generados y del agua y energía consumidos, aunque puedan suponer un mayor esfuerzo económico, tal y como he comprobado que se hace en el Centro de Investigación en Acuicultura Continental y Marina.

Como conclusión final, me gustaría añadir que creo que es necesario un mayor esfuerzo e inversión por parte de las instituciones públicas, tanto regionales como a nivel estatal, para apoyar a la ciencia y la investigación en este país. Anteriormente a la realización de las prácticas en este Centro de investigación, ya era consciente de esta necesidad, pero el hecho de que la continuación de un centro de estas características, el cual fue inaugurado en abril del año pasado y que ha supuesto una inversión de casi tres millones de euros (2.897.410 €), quede en el aire, es algo que clama al cielo y me ha reafirmado en mis convicciones al respecto.

## 5. Bibliografía

Carbó, R. *Sistemas de Recirculación para la Acuicultura (SRA)*. Hojas divulgativas Fundación Observatorio Español de Acuicultura-Sociedad Española de Acuicultura (2009).

Carrillo, M. (coord.). *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura*. Fundación Observatorio Español de Acuicultura (2009).

Chiu, S. *et al.* *Reduction of CO<sub>2</sub> by a high-density culture of Chlorella sp. in a semicontinuous photobioreactor*. *Bioresource Technology*: 99 (2008) 3389-3396.

Conte, F. S. *Stress and the welfare of cultured fish*. *Applied Animal Behaviour Science* 86 (2004) 205–223.

Environmental Inquiry, Cornell University and Penn State University. *Culturing Daphnia*.

Disponible en web: <http://ei.cornell.edu/toxicology/bioassays/daphnia/culture.html>. [Consulta: 22 de agosto de 2012].

Erguden, S. A. and Goksu, M. Z. L. *The reproductive biology of tench (Tinca tinca L., 1758) in Seyhan Reservoir (Adana, Turkey)*. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10 (8) (2011), 1041-1044.

Fernandes-de-Castilho, M; Pottinger and T.G; Volpato G.L. *Chronic social stress in rainbow trout: Does it promote physiological habituation?* *General and Comparative Endocrinology* 155 (2008) 141–147.

Jentoft, S. *et al.* *Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (Perca fluviatilis) and domesticated rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 141 (2005) 353 – 358.

Jover, M (coord.). *Peces continentales*. Máster Interuniversitario de Acuicultura UV-UPV (2012).

Navarro, J.C. (coord.). *Cultivos auxiliares*. Máster Interuniversitario de Acuicultura UV-UPV (2012).

North, B.P. *et al.* *The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. *Aquaculture* 255 (2006) 466–479.

Ortega, A. *1 Cultivo de dorada (Sparus aurata)*. Cuadernos de acuicultura. Fundación Observatorio Español de Acuicultura (2008).

Paleo, J.D. *Ingeniería de la acuicultura marina*. Fundación Observatorio Español de Acuicultura (2007).

Prieto, A. *La prevención y el control de enfermedades en el cultivo de peces.- Aspectos a considerar*. CIVA (2002).

Sanz, F. (coord.). *La nutrición y alimentación en piscicultura*. Fundación Observatorio Español de Acuicultura (2009).