

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE GANDIA
Grado en Ciencias Ambientales



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



ESCUELA POLITÉCNICA
SUPERIOR DE GANDIA

“Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio”

TRABAJO FINAL DE GRADO

Autor/a:

Marina García Gutiérrez

Tutor/a:

Silvia Laura Falco Giaccaglia

Julia Escrivá Perales

GANDIA, 2016

Contenido

Resumen.....	2
Abstract.....	2
1. Introducción	3
1.1 Hábitat y distribución.....	3
1.2 Biología.....	4
1.3 Situación actual	5
1.4 Objetivos	5
2. Material y métodos	6
2.1 Captura.....	6
2.2 Estabulación.....	7
2.2.1 Sistemas.....	7
2.2.2 Densidad y biometría de los reproductores	9
2.2.3 Caracterización del sedimento.....	12
2.3 Acondicionamiento	13
2.3.1 Alimentación	13
2.3.3 Control de calidad de las aguas	18
2.4 Inducción a la reproducción.....	19
2.5 Cultivo larvario	21
3. Resultados y discusión.....	22
3.1 Calidad físico-química del agua.....	22
3.3 Inducción al desove.....	27
3.4 Cultivo larvario.....	29
4. Conclusión.....	31
5. Referencias.....	32
Anexos	34
ANEXO 1	34
ANEXO 2	34

Resumen

El objetivo de este estudio fue el cultivo y la reproducción de tellinas (*Donax trunculus*) en condiciones controladas de laboratorio. Para ello se trabajó con dos sistemas de estabulación distintos donde se alimentó a los reproductores con una mezcla de tres especies fitoplanctónicas (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) y se establecieron controles rutinarios diarios de calidad físico-química del agua. Tras una aclimatación de aproximadamente un mes, se indujo el desove en los organismos en numerosos intentos, intercalados con descansos semanales, a través de distintas técnicas: choque térmico, una de las más eficaces y exposición en seco, que no fue tan fructífera. Además se efectuó extracción forzada, donde se consiguieron los mejores resultados pero a costa de la vida de los individuos reproductores. Cuando se consiguió ambos gametos (masculinos y femeninos), y por tanto huevos fecundados, se realizó un cultivo larvario preliminar de 48h en oscuridad. Las altas densidades de huevos obtenidas en el desove se redujeron drásticamente durante el cultivo larvario.

Palabras clave: tellina, estabulación, reproducción, desove, cría, fitoplancton, *Donax trunculus*, cultivo larvario, agua, choque térmico, inducción.

Abstract

The aim of this study was the cultivation and reproduction of tellinas (*Donax trunculus*) in checked laboratory conditions. For this we worked with two different stabling systems where organisms were fed with a mixture of three phytoplankton species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Tetraselmis chuii*) and were established a daily routine of physico-chemical quality controls of water. After an acclimation of about a month, spawning was induced in organisms in numerous attempts, interspersed with weekly breaks through different techniques: thermal shock, one of the most effective and dry exposure, which was not so fruitful. In addition it forced extraction, where the best results were achieved but at the cost of life of breeding individuals. When both gametes (male and female) was achieved, and therefore fertilized eggs, a preliminary larviculture of 48 hours in darkness was performed. High densities of eggs obtained from spawning dropped sharply during larval culture.

Keywords: tellina clam, stabling, reproduction, spawning, breeding, phytoplankton, *Donax trunculus*, larviculture, water, thermal shock, induction.

1. Introducción

1.1 Hábitat y distribución

Donax trunculus, es un molusco bivalvo muy extendido a lo largo del océano Atlántico desde la Bretaña francesa hasta Marruecos, mar Negro y el mar Mediterráneo (Figura 1.1) (Gofas, et al., 2011). España, al ser una península tiene gran presencia de *Donax*, con más de 7500km de longitud de costa, en contacto con el Atlántico (Fernández, 1982) y el Mediterráneo, donde se le llama tellina en la zona valenciana y coquina en la zona andaluza.



Figura 1.1: Distribución *Donax trunculus*. Fuente: (MAGRAMA, 2015)

Se encuentra en fondos de arena fina y limpia de zonas litorales, en aguas de hasta unos 15 m de profundidad con influencia del oleaje, estando la gran mayoría entre 1 y 5m de profundidad (Gofas, et al., 2011).

Los individuos más jóvenes (tamaños inferiores a los 10mm) son más abundantes en zonas más superficiales mientras que los individuos mayores (tamaños entre 20 y 37 mm) se encuentran principalmente en las zonas más profundas.

El tiempo medio de vida es corto, entre 2-3 años en el Mediterráneo y entre 4-5 años en el Atlántico. La edad se estima por las estrías del crecimiento y por los anillos hialinos en la concha (Tamayo Goya, 2016). Estas diferencias en el crecimiento se aprecian en diferencias entre las conchas del Atlántico norte y las del Mediterráneo, siendo las primeras más grandes con un extremo posterior más largo (Poppe & Goto, 1993).

1.2 Biología

La coquina o tellina, es un bivalvo de la familia de los donácidos descrita por primera vez por Linneo en 1758 (WoRMS, 2016). Tiene sus valvas desiguales y ovoides (Figura 1.2), la concha es lisa, cuya cubierta calcárea (formada por aragonito y/o calcita) es de forma triangular alargada, convexa, inequilátera e inequivalva cuyo color exterior es blanquecino o parduzco, a veces con vetas violáceas o grises concéntricas, uniforme y brillante, con borde interior dentado (Tamayo Goya, 2016).

El interior es generalmente blanco, violeta o anaranjado, siendo claramente diferenciable las gónadas, músculos aductores, charnela, ligamento o el pie. Dentro de la cavidad paleal también se encuentran los nefridios (aparato excretor), osfradios (semejante a los sentidos), ano y branquias. Su alimentación se basa en fitoplancton en suspensión, a través de un sifón inhalante (es retráctil y cuando no lo utiliza está guardado bajo la concha) y su excreción a través del sifón exhalante.

Son de tamaño pequeño, de 2 a 5 cm. Tienden a enterrarse en la arena, a poca profundidad, mediante el movimiento y contracción del pie.



Figura 1.2.: Tellina, Ejemplares de la costa de Francia. Fuente: Tamayo Goya, 2016.

Se trata de organismos dioicos sin dimorfismo sexual, por lo que la diferencia entre macho y hembra solo es visible abriendo la tellina, con su consecuente muerte. El macho tiene una gónada de coloración blanco-anaranjada y la hembra violácea (Figura 1.3).



Figura 1.3: Macho y hembra de tellina. Fuente: Propia.

Se consideran las gónadas maduras en el 80% de la población cuando la talla de la tellina alcanza 12mm (Delgado, et al., 2014; Zeichen, et al., 2002) . Tiene un ciclo reproductivo estacional (Gaspar, et al., 1999), con la fase de reposo de septiembre a diciembre, y la época de desove desde marzo a agosto, siendo más probable entre marzo-abril, y junio-julio (Ruiz Azcona, 2013).

1.3 Situación actual

Es un bivalvo comestible, muy apreciado en la gastronomía de la costa mediterránea (Soler Díaz, 2015), que ha sufrido un intenso marisqueo en la zona andaluza y valenciana (Gofas, et al., 2011).

El promedio de la Tasa de Captura de 2012 a 2014 fue de 10,95 kg barco/día para la tellina. En la Comunidad Valenciana el valor medio de la captura en 2014 fue de 4,94 Kg por barco y día. El total de capturas obtenidas durante el año 2014 apenas ascendió a 1.901 Kg. De los datos anteriores se desprende que la CPUE(captura por unidad de esfuerzo) de la tellina en 2014 ha sufrido una importante caída respecto a los años anteriores, lo que demuestra que el stock de esta especie sigue disminuyendo (Resolución de 3 de junio de 2015 de la Consellería de Presidencia y Agricultura, 2015).

Este descenso es notable frente a los casi 41.500kg de 2011. Por este motivo, y para aumentar los niveles de biomasa, se ha cerrado la pesquería, prohibiendo el marisqueo en cualquier modalidad en las zonas de producción de moluscos (Resolución de 3 de junio de 2015 de la Consellería de Presidencia y Agricultura, 2015). Esto supone la prohibición de su pesca, con el objetivo de conseguir un aumento de la población y que no haya peligro de extinción.

1.4 Objetivos

El objetivo de este estudio fue la inducción al desove, fecundación e incubación de larvas de *Donax trunculus*, mediante la aclimatación de adultos reproductores en condiciones controladas de laboratorio. Para ello, se experimentó con distintas técnicas de inducción como el choque térmico y la exposición en seco así como la extracción forzada de gametos.

2. Material y métodos

2.1 Captura

Para la recolección de ejemplares adultos de tellinas, se realizaron tres muestreos desde abril a junio(tabla 2.1). El 17 de abril se realizó el primer muestreo donde se recogieron 16 individuos, el 3 de mayo se recolectaron otras 16 y finalmente el 6 de junio 23 ejemplares más.

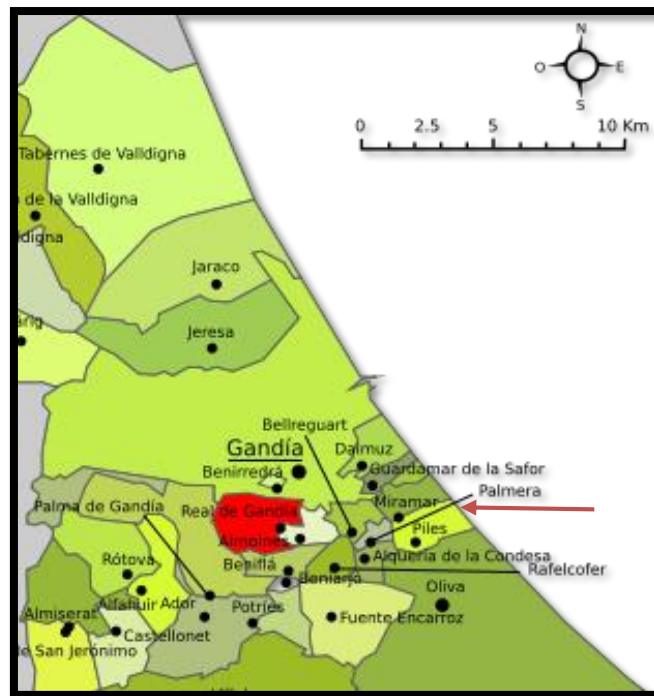


Figura 2.1: Playa de Piles; Fuente: Ajuntament El Real de Gandía

Todas las tellinas fueron recolectadas en la playa de Piles (Figura 2.1). Para la recogida, se empleó un rastrillo a ras de la zona bentónica, arrastrando hasta desenterrarlas, o bien manualmente. El traslado se realizó en las mejores condiciones posibles, con agua suficiente y arena en todo momento, en recipientes opacos y herméticos.

Tabla 2.1: Muestreos realizados

Muestreo	1	2	3
Fecha	17-Abr	3-May	6-Jun
nº individuos	16	16	23

2.2 Estabulación

Con la finalidad de preservar la seguridad de los organismos y evitar problemas de contaminación, ya sea química o biológica, todo el material ha sido esterilizado o desinfectado mediante autoclave, radiación ultravioleta y/o lejía, tanto el utilizado en la estabulación (peceras, PVC, mallas, cordeles, sedimento y grava, tubos...) como el necesario para el mantenimiento (agua de mar), alimentación (pipetas, Erlenmeyer, probetas, vasos de precipitado, tubos de ensayo...) y la inducción al desove (vasos, bombas peristálticas, termómetros...).

2.2.1 Sistemas

Para la realización del experimento se han empleado cuatro acuarios de 21cm de ancho por 44 de largo y 22 cm de alto, con dos sistemas diferentes para cada par. Mientras que en uno se impulsa agua de forma descendente (figura 2.2), en el otro se impulsa agua saturada con oxígeno de forma ascendente a través del sedimento (figura 2.4).

Sistema Waterlift descendente

Para el primer sistema compuesto por dos peceras nombradas como P1 y P2, se han utilizado tubos de PVC cortados, agujereados y limados cuya función es el soporte de "cestas" (Figuras 2.2). Estas cestas, de malla y cordel contienen tela porosa (malla térmica agrícola) y en su interior sedimento de 7cm de altura esterilizado (arena marina cuyas características pueden verse en el punto 2.2.3). Después este sistema es rellenado con 14 L de agua de mar estéril.



Figuras 2.2: Sistema waterlift descendente. Fuente: Propia.

En los vértices de las cestas, fueron insertados tubos transparentes rígidos, que llegan a la parte más baja, donde se introdujeron aireadores que impulsan el agua haciéndola mover desde arriba hacia abajo a través del sedimento. El efecto de la aireación, produce un impulso en el agua, haciéndola subir por los tubos y borbotear suavemente en la parte superior. Al salir, atraviesa el sedimento, oxigenándolo, y la cesta, para volver a ser impulsada en los tubos. Para garantizar una correcta calidad

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

del agua, cada dos días, se estableció una filtración de 440L/h durante más de 10h utilizando bombas especializadas con filtro interno de carbón activo y perlón marca Eheim (Figura 2.3).



Figura 2.3: Filtro Eheim utilizado. Fuente: Propia

Sistema 2: Waterlift ascendente

Este sistema compuesto por las peceras P4 y P5, se basa en el descrito por Ruiz Azcona (2013) donde se introduce directamente agua saturada con oxígeno por debajo del sustrato mediante el uso de una bomba continua (marca Eheim) que filtra 300L/h. Se preparó de tal forma que en la base del acuario reposa un único tubo de goma porosa con 4 agujeros realizados a distancias regulares, cubierto y rodeado de gravas de distintos calibres, en una capa de aproximadamente 5cm de grosor. Sobre esta capa de grava, se superpuso la tela porosa (malla térmica agrícola) con una superficie superior (70x45 cm) a la necesaria para cubrir la del acuario, de forma que la tela revista los laterales y no se cuele la siguiente capa de sedimento arenoso de 7 cm de espesor. Se colmata con agua marina estéril (8L). En el interior se introdujo una cesta de malla verde de 21,5x5x9,5 cm, más pequeña con tela adherida de 45 µm de poro, llamado nital (Figura 2.4), para captar agua por parte de la bomba y limitar la absorción de fitoplancton (Figura 2.4).

Una vez montado el sistema, el funcionamiento es el siguiente: La bomba en marcha, absorbe agua de la cesta pequeña ya saturada con oxígeno por la presencia de un aireador, para pasar el agua por el filtro y recircularla a través de la goma porosa por la base del acuario, de forma que ya saturada con oxígeno, asciende, permitiendo así un ciclo cerrado e impidiendo que se produzca anoxia en el sedimento.

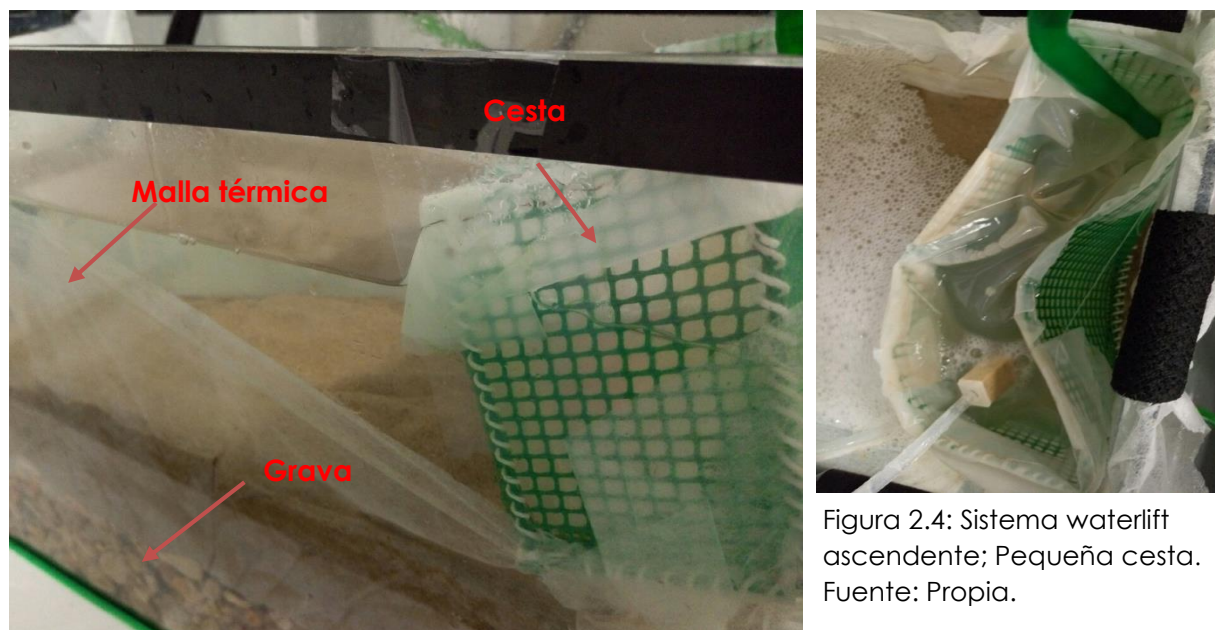


Figura 2.4: Sistema waterlift ascendente; Pequeña cesta. Fuente: Propia.

2.2.2 Densidad y biometría de los reproductores

Al comienzo del experimento (17 abril) se introdujeron 8 tellinas en P1 y otras 8 en P2, ambas peceras correspondientes al sistema waterlift descendente (Tabla 2.2). El 3 de mayo se introdujeron otras 8 en P4 y P5, ambas peceras correspondientes al sistema waterlift ascendente (Tabla 2.4).

Los ejemplares de P1 y P2, se juntaron el día 6 de junio en la renombrada pecera P1' (la antigua P1) y se introdujeron 10 nuevas tellinas en la pecera P2' (antigua P2).

En las tablas 2.2, 2.3 y 2.4 se muestran las tallas y pesos de los individuos de cada pecera, en color naranja aquellas tellinas que murieron por diversas causas. Antes de transferir los individuos de P1 y P2 a la renombrada P1', se midieron y pesaron de nuevo.

Tabla 2.2 - Biometrías de las tellinas en P1 y P2 (waterlift descendente):

P1			P2		
Individuos	Talla(cm)	Peso(g)	Individuos	Talla(cm)	Peso(g)
1	3,13	3,2007	1	2,04	1,2292
2	2,78	3,1504	2	2,05	1,0823
3	2,03	1,2072	3	2,64	2,4215
4	1,83	0,8109	4	2,88	3,0056
5	2,65	2,635	5	2,72*	2,8027
6	2,49	2,1713	6	2,5	2,2522
7	2,3	1,7683	7	2,45	2,0089
8	2,19	1,3474	8	2,22	1,5397

*Muerte el 2/06

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Tabla 2.3: Biometría de las tellinas en P1' y P2' (waterlift descendente):

P1'			P2'		
Individuos	Talla(cm)	Peso(g)	Individuos	Talla(cm)	Peso(g)
1	2,9	2,9716	1	2,69	2,5234
2	2,54	2,2051	2	2,72*	2,3635
3	2,67*	2,4531	3	2,47	1,9436
4	2,57	2,3164	4	2,47	2,1095
5	2,33	1,7648	5	2,33	1,7252
6	2,22	1,358	6	2,43**	1,9122
7	2,08	1,2803	7	2,46	2,0544
8	2,32	1,8223	8	2,52	2,147
9	2,27	1,5218	9	2,4	1,6853
10	2,69	2,6922	10	2,31	2,0266
11	2,54	2,2603			
12	3,17	3,252			
13	2,83	3,2232			
14	2,1	1,3155			
15	2,08	1,1952			

*Muerte el 9/06 **Muerte el 10/06

Tabla 2.4: Biometría de las tellinas P4 y P5 (waterlift ascendente):

P4			P5		
Individuos	Talla(cm)	Peso(g)	Individuos	Talla(cm)	Peso(g)
1	2,53	2,0643	1	2,75	2,7375
2	2,4	2,0204	2	2,53	2,1414
3	2,63	2,4182	3	2,45	1,748
4	2,61	2,2126	4	2,38	1,9196
5	2,39	1,8361	5	2,4	1,933
6	2,42*	1,8735	6	2,38	1,8129
7	2,41	1,7215	7	2,53	2,0891
8	2,61	2,561	8	2,57	2,2005

*Muerte 8/05

Las tellinas resaltadas en naranja, han muerto durante el experimento. Las causas probables son el estrés al que han sido sometidas durante el transporte, o manipulación.

Como se explicó en la introducción, se seleccionaron a propósito todas aquellas tellinas que superaban la talla de 16mm con la finalidad de encontrarlas lo más maduras posible, y aumentar su maduración durante el mes de aclimatación.

En la tabla 2.5 se puede ver la densidad de individuos tanto iniciales como finales, y la supervivencia de estos en cada pecera.

Tabla 2.5: Densidad de individuos y supervivencia.

Sistema	Waterlift descendente				Waterlift ascendente		Total
	P1	P2	P1'	P2'	P4	P5	
Pecera							Total
Nºindividuos inicio	8	8	15	10	8	8	42
Nºindividuos final	8	7	14	8	7	8	38
Superficie(m²)	0,0924	0,0924	0,0924	0,0924	0,0924	0,0924	0,0924
Densidad inicial(ind/m²)	87	87	162	108	87	87	
Densidad final(ind/m²)	87	76	152	87	76	87	
Supervivencia (%)	100	88	93	80	88	100	90
Mortalidad (%)	15				6		10

La superficie del acuario es de 0,0924m² (21x44cm de ancho y largo) y aproximadamente todas las densidades estuvieron por debajo de la sugerida por Ruiz Azcona (2013) de 160 individuos /m², si bien esta densidad sólo es citada para el cultivo del longueirón. También esta autora referencia que la mortalidad de los reproductores de tellinas en la fase de estabulación se encuentra en torno al 15 %. La tasa de mortalidad para para los organismos de los sistemas waterlift descendente fue del 15% mientras que para los del waterlift ascendente fue del 6%, si bien la densidad de ind/m² fue mayor en el primer sistema que en el segundo por lo que no se pueden obtener conclusiones sobre qué sistema fue el más adecuado.

Para un correcto cálculo de la ración diaria de alimento (realizado en el punto 2.3.1: Alimentación), se debe conocer el peso seco de tellina (dado que se le proporciona entre un 2% y un 5% del mismo en peso seco de fitoplancton).

Utilizando los datos de un estudio previo de Bizarro Álvarez (2015), se pudo establecer una relación matemática (Figura 2.5) entre el peso total de la tellina, y el peso de la carne. Sabiendo que el peso de la carne de la tellina es 80% de agua se pudo calcular el peso seco de la misma, para emplearlo en el cálculo de la ración alimenticia.

La relación peso total-peso carne está representada en la siguiente ecuación, donde "x" corresponde al peso total de la tellina, e "y" al peso sólo de la carne:

$$y = 0,0263x^2 + 0,1459x + 0,0191$$

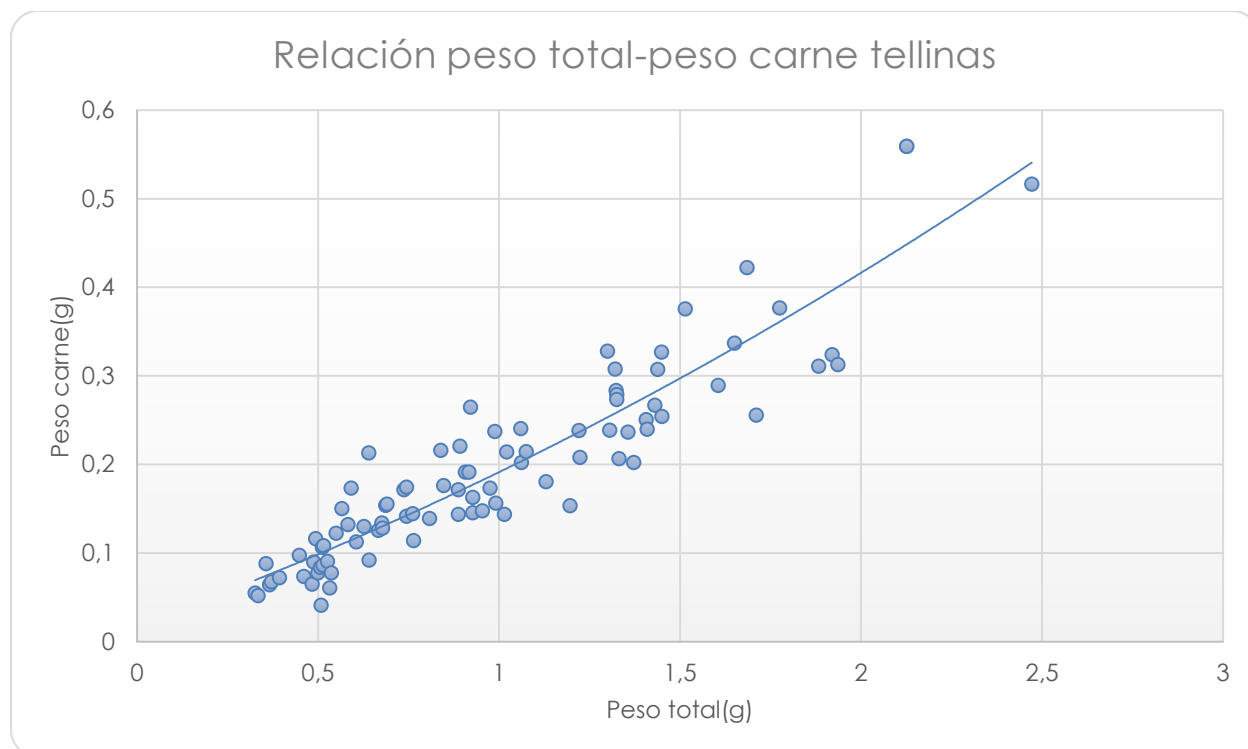


Figura 2.5: Gráfico sobre la relación del peso de tellinas. Fuente: Propia.

2.2.3 Caracterización del sedimento

Se realizó una granulometría para conocer la distribución de tamaños del sedimento utilizado mediante metodología de Shepard (1954). Dos réplicas por muestra, dos muestras, una por sistema, en la tabla 2.6 se indican los resultados promedios.

Tabla 2.6: Caracterización del sedimento.

Tipo %	Partícula(mm)	Waterlift ascendente	Waterlift descendente
Grava	>2	0,00	0,01
Arena muy gruesa	2-1	0,04	0,00
Arena gruesa	1-0,5	0,95	0,88
Arena media	0,5-0,25	39,06	40,04
Arena fina	0,25-0,125	31,96	12,80
Arena muy fina	0,125-0,063	27,86	45,82
Limo+arcilla	<0,063	0,14	0,46

En la tabla 2.6 se aprecia que entre un 97 y un 99% del sedimento se distribuye entre arena muy fina y arena media, con un grosor de partícula de 0,063 a 0,5mm, tanto en el sistema waterlift ascendente como descendente.

2.3 Acondicionamiento

2.3.1 Alimentación

Se realiza con tres especies fitoplanctónicas (Ruiz Azcona P., 1996): con la diatomea *Chaetoceros gracilis*, la primnesial *Isochrysis galbana* y la prasinófica *Tetraselmis chuii*, mediante cultivos controlados y recuentos en cámaras Bürker (Grupo de Investigación UCM nº910801, 2015).

Estudio del crecimiento de las especies fitoplanctónicas

Para la alimentación de las tellinas, se efectuó un estudio previo a la captura de tellinas, en el que se evaluaba el crecimiento de tres cultivos distintos de fitoplancton (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros gracilis*, Figura 2.6) cuyo uso sólo fue factible cuando la población fue relativamente estable. Primero fueron estudiadas en Erlenmeyer y luego transferidos a botellas de mayor volumen, con aireación y luz, a una temperatura estable cercana a 31°C y 47% de humedad en cámaras controladas. El medio de crecimiento fue agua de mar, que previamente había sido filtrada con filtros de 0,45 µm, esterilizada en autoclave y a la que posteriormente se añadieron los nutrientes necesarios (nitrato, fosfato, silicio, y trishidroximetilaminometano; [Anexo 1](#)).

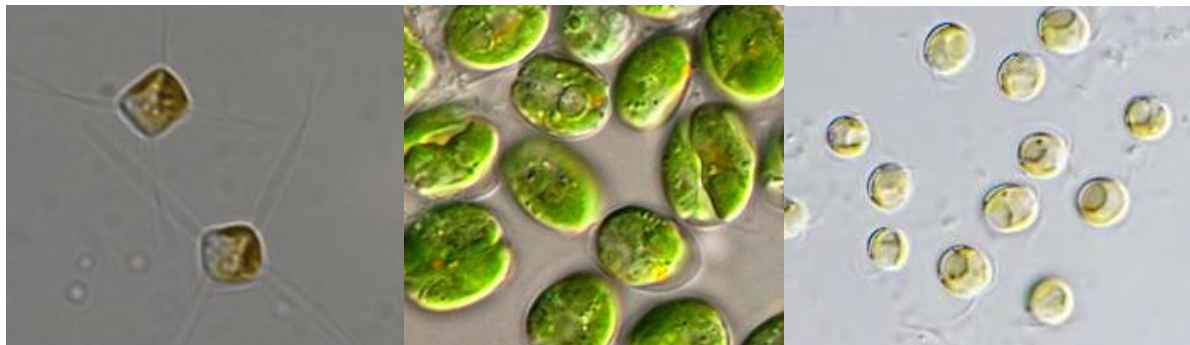


Figura 2.6: *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana*. Fuente: (Baker, 2012)

Tras un exhaustivo recuento en microscopio con cámaras Bürker (Figura 2.7), se obtuvieron las siguientes gráficas de la evolución de la densidad celular en dos cultivos distintos para cada especie (uno llamado "7 de abril" y otro "28 de abril", dado que fue la fecha en que comenzaron los cultivos). Una vez se obtuvo una densidad relativamente estable, se asumió una estabilidad y se hicieron recuentos de forma semanal aproximadamente para constatar o modificar si fuera pertinente la cantidad requerida por las tellinas (Figuras 2.8, 2.9, 2.10).

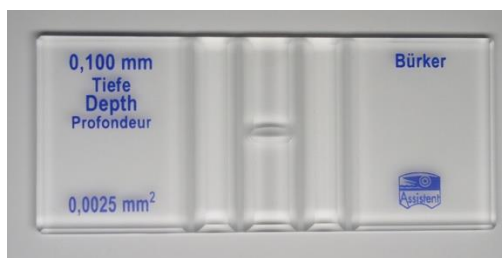


Figura 2.7: Cámara Bürker

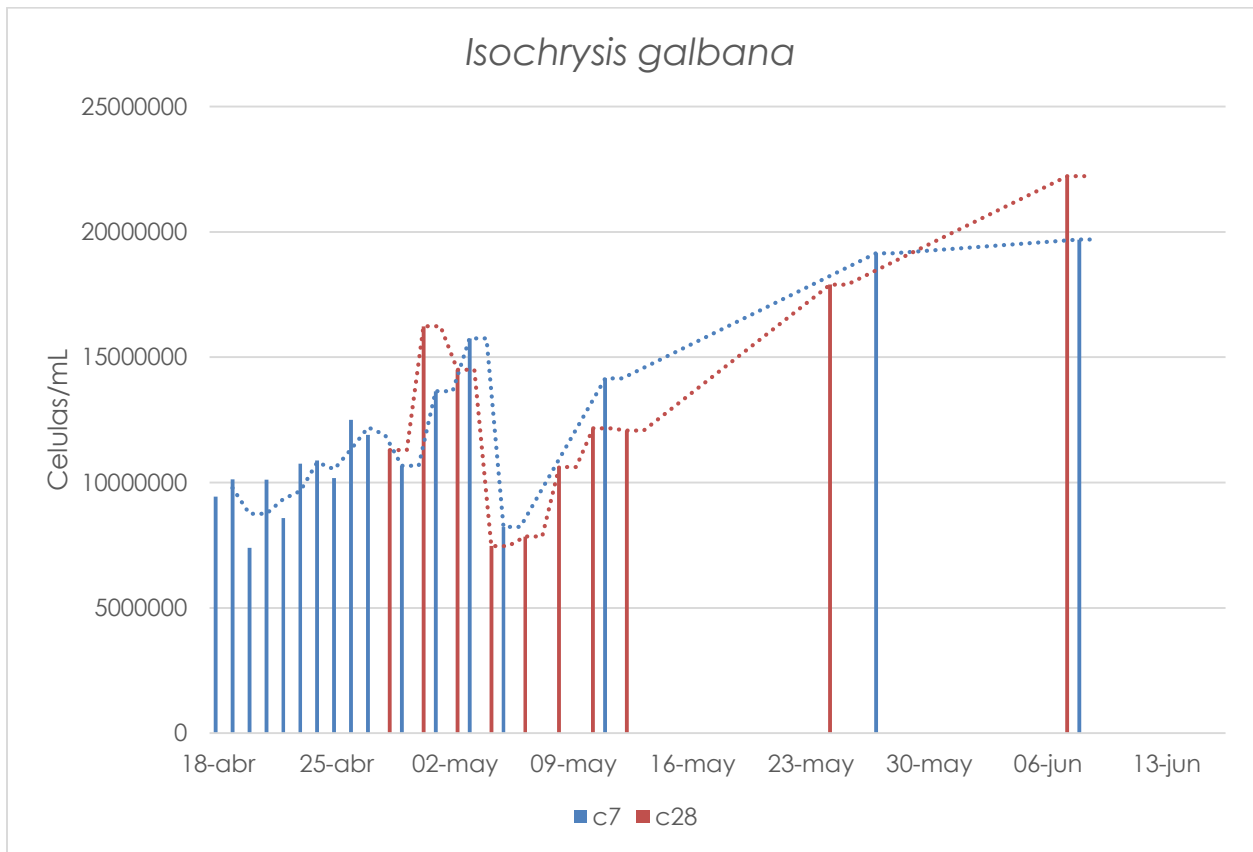


Figura 2.8: Evolución *Isochrysis galbana*. Elaboración propia.

Respecto a *Isochrysis*, es la cepa con más densidad celular, notablemente estable como se aprecia en la figura 2.8. Con valores muy similares entre ambos cultivos, los recuentos comprobatorios arrojaron unas variaciones despreciables; por ello se puede constatar que es una cepa muy versátil y adecuada para la alimentación de organismos por su facilidad de crecimiento y mantención.

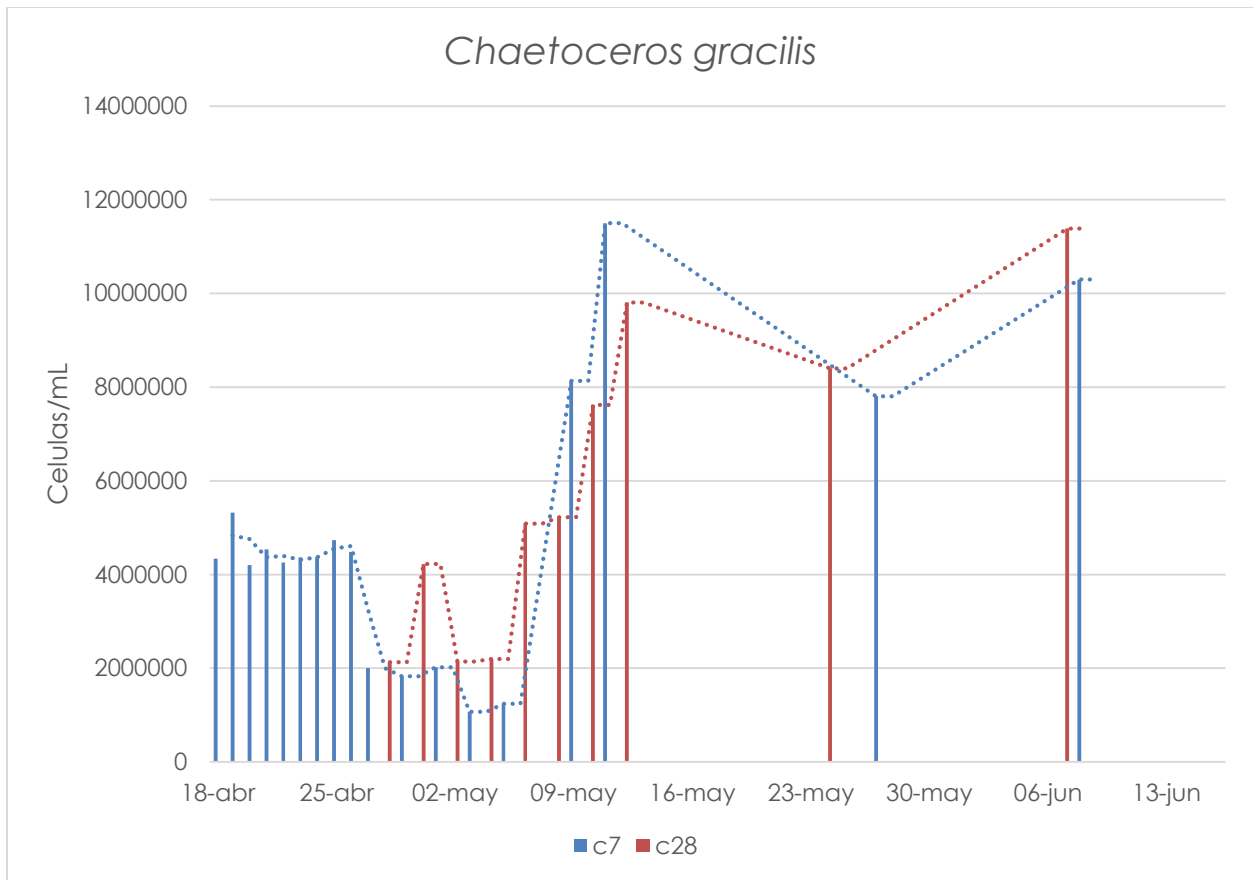


Figura 2.9: Evolución *Chaetoceros gracilis*. Elaboración propia.

Chaetoceros es quizás la cepa más problemática debido a su poca estabilidad (Figura 2.9, semana del 23 de mayo al 30), dado que en varias ocasiones hubo densidades celulares por mililitro excesivamente bajas o altas. Es recomendable realizar recuentos semanales, como poco, para garantizar una alimentación óptima. Una vez alcanzada la estabilidad, aunque son grandes densidades en ambos cultivos, debe vigilarse la progresión para evitar perturbaciones en la población.

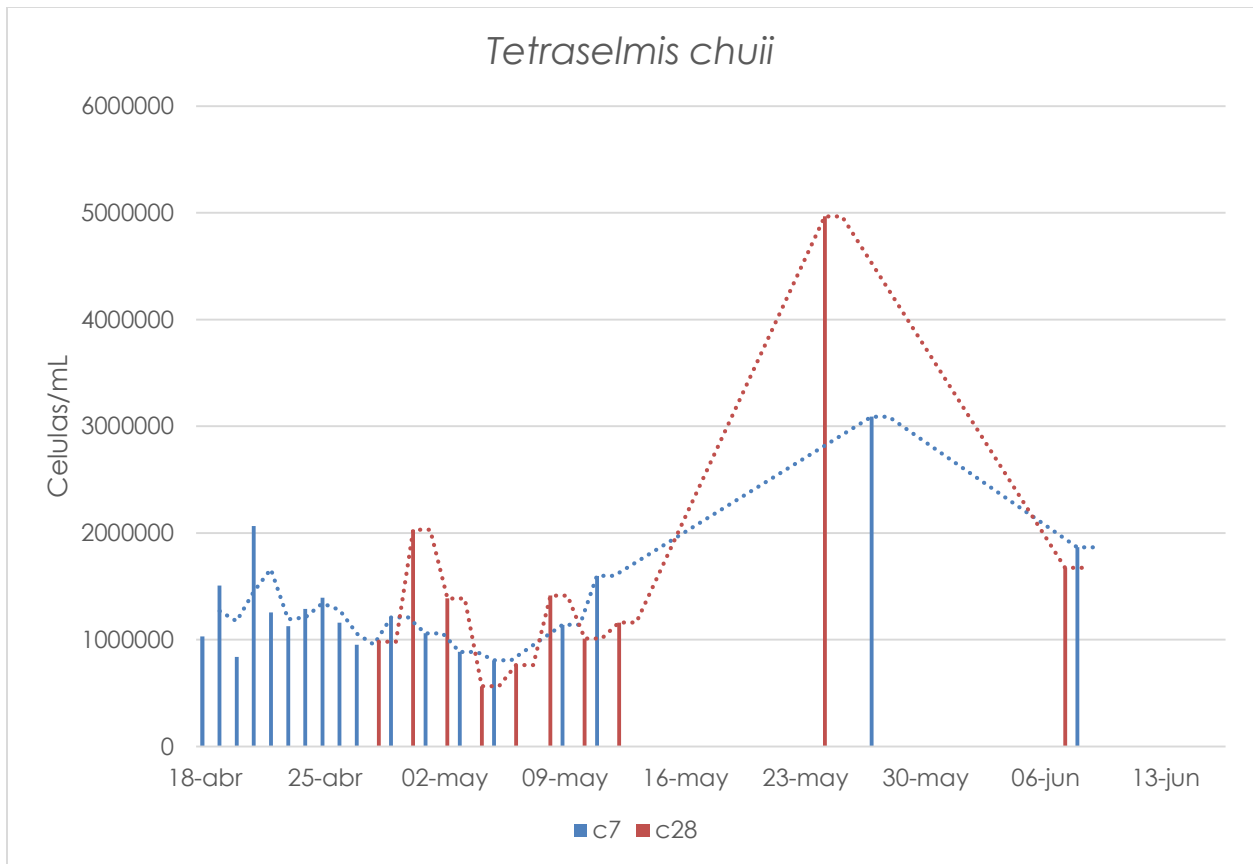


Figura 2.10: Evolución *Tetraselmis chuii*. Elaboración propia.

En el caso de *Tetraselmis*, se denota una menor densidad celular general, debido al tamaño celular, pues *Tetraselmis* es notablemente más grande que las otras dos especies. La estabilidad es relativa, al igual que en *Chaetoceros*, por picos de altas o bajas densidades, por lo que también es recomendable, seguir de cerca el progreso y las variaciones de la población.

Las variaciones poblacionales de cualquiera de las tres especies, pudieron ser motivadas por factores como variaciones en la dilución del cultivo, dado que el volumen extraído para alimentación era repuesto con medio de crecimiento para compensar y por las diferencias existentes entre los ciclos de vida de las especies, que difieren en longevidad.

Cálculo del volumen alimentario de microalgas

El volumen requerido para la alimentación fue calculado a diario en un primer momento, hasta que se asumió una densidad semanal estable, a partir de la cual se recogían volúmenes fijos de cada cultivo. A continuación se detalla la ecuación y empleada para saber la alimentación a suministrar, en función del peso seco total de tellinas por pecera.

Helm, et al. (2006) proponen una ración de peso de fitoplancton que se corresponda a entre un 2 a 5% del peso seco de carne de cada tellina. Se escogió un 3%, dado que se dispone de 3 especies, se utilizó un 1% de cada una. La ecuación siguiente muestra la forma de calcular el volumen necesario por especie, para un peso seco total de tellina por pecera.

$$\text{Volumen de cultivo (mL)} = \frac{0,01 \times \text{peso seco total de tellina en cada pecera (g)}}{\text{peso seco especie} \left(\frac{\text{g}}{\text{cel}}\right) \times \text{densidad celular} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}}\right)}$$

Así pues, para el cálculo de una ración diaria del 3% se utiliza la densidad celular de cada cultivo de fitoplancton conociendo previamente el peso de una célula de cada especie (Helm, et al., 2006) (tabla 2.7).

Como ejemplo, sabiendo que una de célula de *Tetraselmis* pesa 2,1 ·E-07 (Helm, et al., 2006), se realiza una regla de tres con los millones de células por mililitro que han sido contadas con cámara Bürker para averiguar el peso de la densidad actual; para saber la ración, se multiplica el sumatorio del peso seco de tellinas de la pecera, por uno y se divide entre los gramos de *Tetraselmis* que se acaban de calcular. De esta forma se obtiene el volumen requerido para cubrir las necesidades nutricionales de las tellinas en función del peso celular, de forma diaria.

Tabla 2.7: Peso de las distintas especies de fitoplancton:

	<i>Isochrysis</i>	<i>Tetraselmis</i>	<i>Chaetoceros</i>
Peso 1 millón de células (g)	0,021	0,21	0,03
Peso 1 célula (g)	2,1E-08	2,1E-07	3E-08

Tabla 2.8: Requerimiento diario final en millones de células de especie por pecera:

	P1	P2	P1'	P2'	P4	P5
Peso seco total de tellinas (g)	0,71	0,70	1,26	0,68	0,63	0,70
Requerimientos 1% <i>Isochrysis</i> (células)	3,38E+08	3,34E+08	6,01E+08	3,23E+08	2,99E+08	3,33E+08
Requerimientos 1% <i>Tetralsemis</i> (células)	3,38E+07	3,34E+07	6,01E+07	3,23E+07	2,99E+07	3,33E+07
Requerimientos 1% <i>Chaetoceros</i> (células)	2,37E+08	2,34E+08	4,20E+08	2,26E+08	2,09E+08	2,33E+08

Los valores de ración, corresponden a los millones de células que requiere cada pecera, cada día, de cada especie, y con ello y la densidad celular del día, se calculan los mililitros diarios a alimentar.

Con estos requerimientos celulares (Tabla 2.8) se estimaron los mL diarios necesarios para alimentar cada pecera, en función de la cantidad y peso de las tellinas.

2.3.3 Control de calidad de las aguas

Se midió diariamente los valores de salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y saturación del mismo, y de forma regular el amonio. Los aparatos utilizados para esta finalidad son conductímetro para salinidad y temperatura (sonda Multi 340i WTW) y oxímetro para oxígeno disuelto (sonda óptica proODO YSI); Para la determinación de amonio se ha seguido la metodología propuesta en Aminot y Chaussepied (1983) que se basa en la reacción de Berthelot.

El control de calidad de aguas empezó el día 15 de abril para P1 (posteriormente P1'), P2 (posteriormente P2') y P4, que fue anterior a la introducción de los organismos. Con la pecera P5, correspondiente al sistema waterlift ascendente, se comenzó a controlar la calidad el día 30 de abril.

2.4 Inducción a la reproducción

El procedimiento es relativamente sencillo, dado que, tras una aclimatación de los adultos reproductores, consiste básicamente en inducir el desove.

Para realizar correctamente la inducción, se ha empleado material estéril como se indicó al comienzo del capítulo 2 de estabulación, pues las larvas son extremadamente sensibles (pipetas, vasos de precipitados, termómetros y bombas peristálticas). El agua utilizada ha sido filtrada con filtros de 1,2 μm , y esterilizada mediante radiación ultravioleta y autoclave con el objetivo de erradicar todo posible patógeno.

Se siguieron tres métodos distintos para la inducción al desove de los organismos: choque térmico, tratamiento en seco y extracción forzada de gametos.

2.4.1 Choque térmico

Consiste en provocar estrés en el bivalvo, mediante cambios de la temperatura del agua (12-15° y 25-28°), bruscos durante 30 a 40 minutos (Ruiz Azcona, 2013). En unos intentos, se mantenían dos vasos de precipitados con un volumen aproximado de 0,2L a distintas temperaturas, entre los cuales se movían las tellinas una vez transcurrido el tiempo, de forma manual. A este, se le llamó choque brusco.

Se realizó también otro tipo de choque, donde las tellinas no sufrían traslado alguno, y mediante una bomba peristáltica se succionaba el agua en la que estaban (ya fuera fría o caliente) lentamente, y se reincorporaba el agua contraria (caliente o fría respectivamente) de forma progresiva (Figura 2.11). De esta forma, los sifones estaban de forma continua fuera de las valvas, y se garantizaba un estrés menor. A este último se le llamó choque gradual.



Figura 2.11: choque térmico gradual

Durante la exposición de las tellinas a las aguas de distinta temperatura, se añadió un pequeño volumen de fitoplancton para estimular la salida de sifones.

2.4.2 En seco

Este método consiste, como su nombre indica, en dejar durante 2-12h horas a los individuos adultos en seco, sin sedimento ni alimentación. En todos los intentos se dejó a los individuos entre 7 y 9h (JACUMAR, 2009) en una bandeja seca de plástico (Figura 2.12). Tras la exposición en seco, se reintroduce las tellinas en agua a temperatura ambiente durante un mínimo de 3h, con un pequeño volumen de fitoplancton, a la espera de que tras el estrés al que han sido sometidas, suelten gametos.



Figura 2.12: Técnica en seco.

2.4.3 Extracción Forzada

Este método es el más invasivo. Trata de obtener de forma manual los gametos para juntarlos en agua y que se produzca así la fecundación (JACUMAR, 2009). El procedimiento se ha realizado mediante un bisturí, un par de agujas y una pequeña cucharilla/espátula. Empleando la aguja, se puede pinchar la gónada de la tellina, y extraer suavemente los gametos (Figura 2.13). En caso de no lograrlo, delicadamente se hace una incisión en la gónada (Figura 2.13), en la zona más cercana al pie, y con la cucharilla se recoge suavemente el contenido para introducirlo en agua estéril y filtrada. Una hora después ya deberían verse huevos fecundados en el primer estadio.

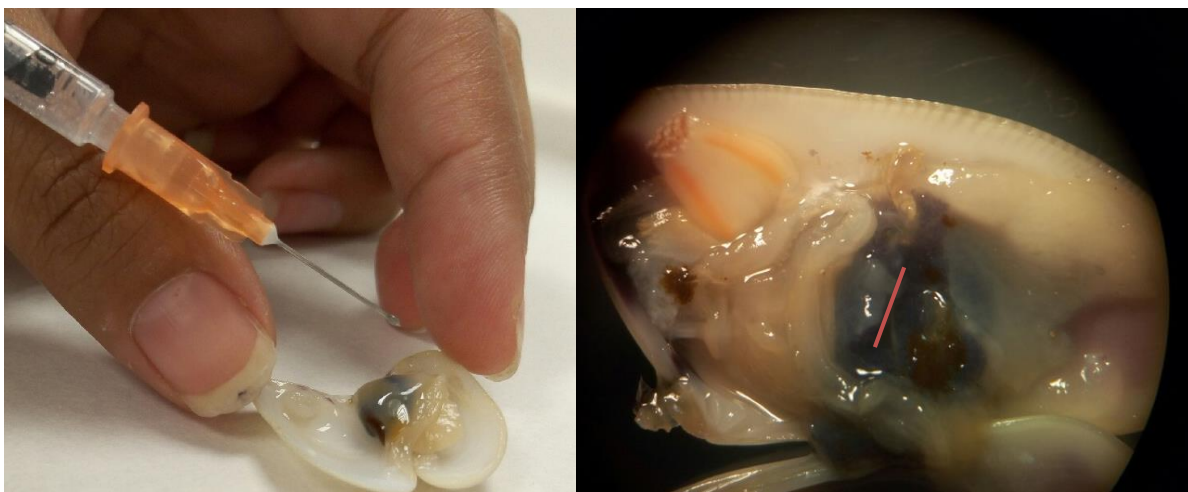


Figura 2.13: Extracción con aguja, y corte en la gónada con bisturí. Fuente: Propia.

2.5 Cultivo larvario

Si bien el objetivo de este trabajo fue sólo la reproducción, en aquellos casos en los que se tuvo una respuesta positiva se mantuvo los huevos con una suave aireación, en completa oscuridad durante un mínimo de 48h. Tras esta fase, se comienzan a alimentar con fitoplancton, dado que en teoría el vitelo del huevo ha sido consumido y son capaces de alimentarse. Esta fase duraría aproximadamente un mes, antes de fijarlas al sustrato. La densidad larvaria debe ser de 5 a 10 por mililitro.

La siguiente etapa sería fijarlas al sustrato en unos tanques adaptados con sistema de aireación, durante al menos 3 meses. El índice de supervivencia es menor del 15% (JACUMAR, 2009).

3. Resultados y discusión

3.1 Calidad físico-química del agua

La calidad físico química de las aguas de los distintos acuarios se pueden observar en los gráficos 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 y 3.6. Las tablas de los valores utilizados para los gráficos, se adjuntan en el [anexo 2](#).

Los valores físico-químicos han sido tomados diariamente desde el 15 de abril en el caso del sistema waterlift descendente P1 y P2 (Figuras 3.1, 3.2) hasta el 6 de junio; P1' y P2' (Figuras 3.3, 3.4) desde el 6 de junio hasta el 15 de junio; el waterlift ascendente P4 (Figura 3.5) desde el 15 de abril (aunque no hubo tellinas hasta el 3 de mayo) hasta el 15 de junio, y desde el 30 de abril en el de waterlift P5 (Figura 3.6), hasta el 15 de junio:

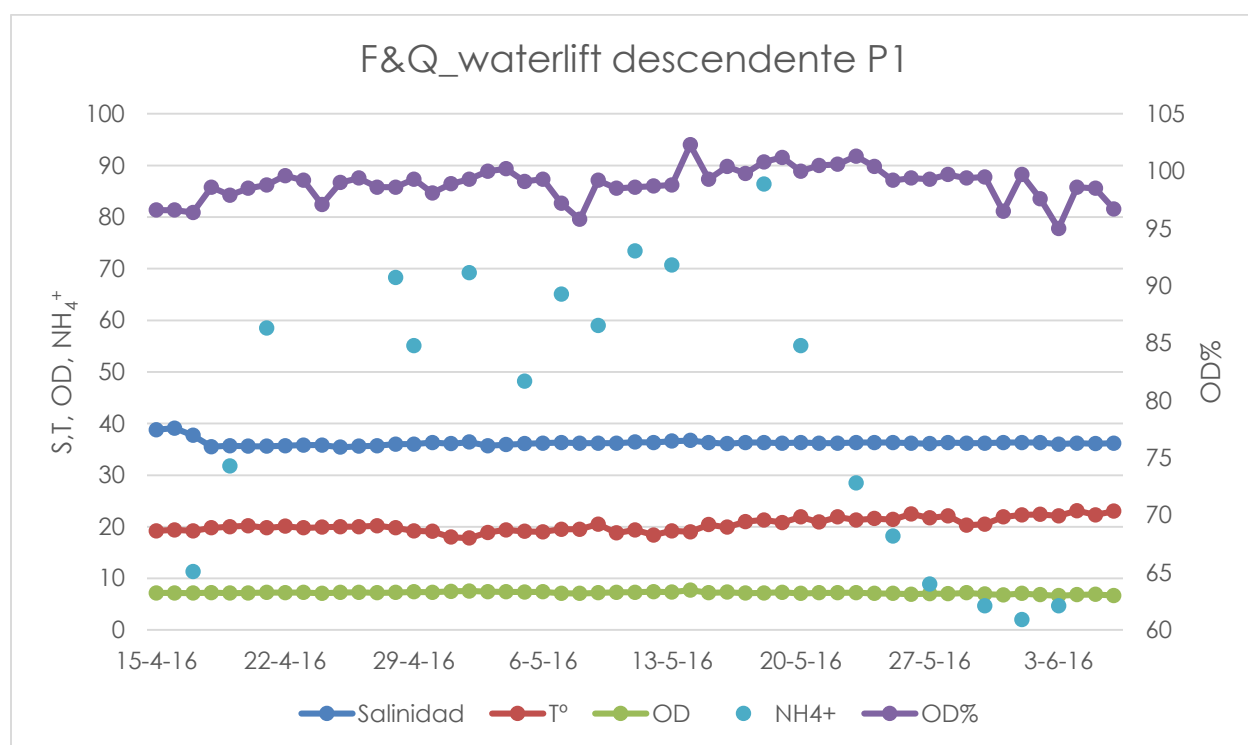


Figura 3.1: Características físico-químicas waterlift descendente P1. S: salinidad (‰), T: temperatura (°C), OD: oxígeno disuelto (mg/L), NH₄⁺: amonio (μM), OD%: porcentaje saturación oxígeno disuelto (%).

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

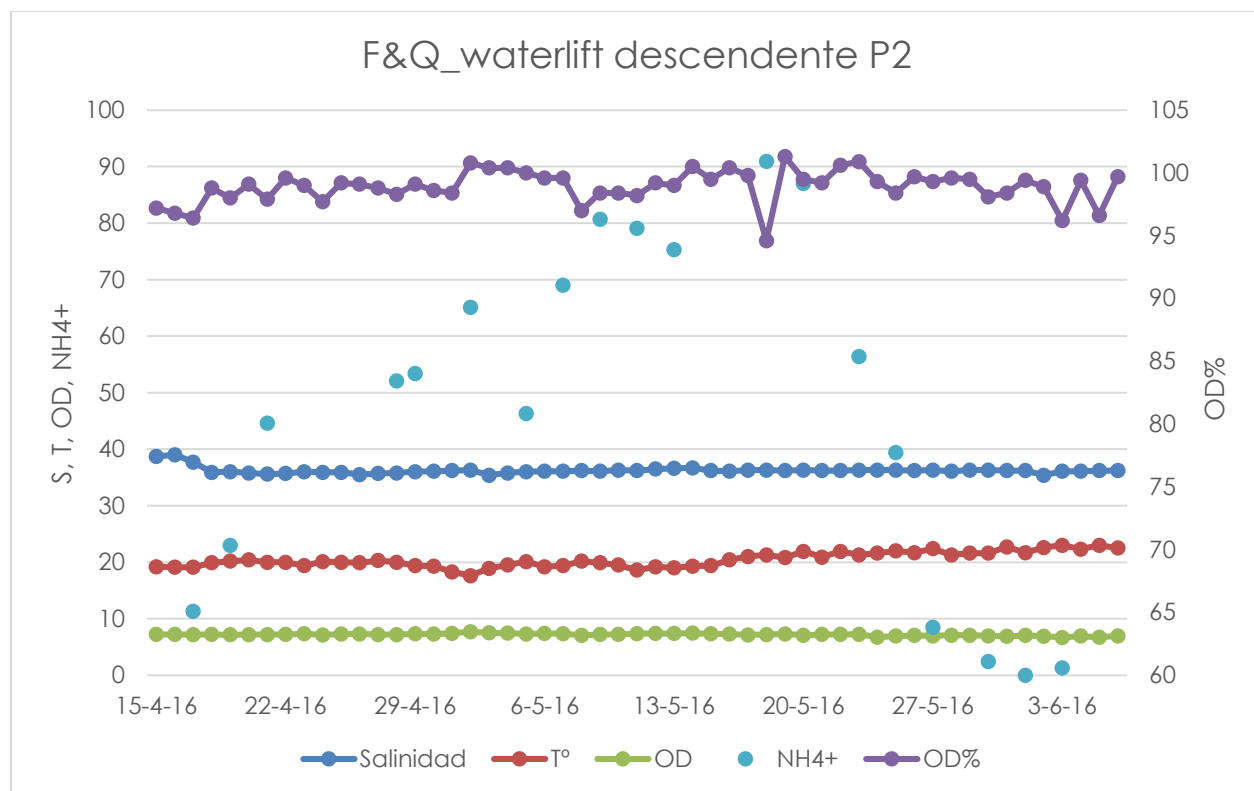


Figura 3.2: Características físico-químicas waterlift descendente P2. S: salinidad (‰), T: temperatura (°C), OD: oxígeno disuelto (mg/L), NH₄⁺: amonio (μM), OD%: porcentaje saturación oxígeno disuelto (%).

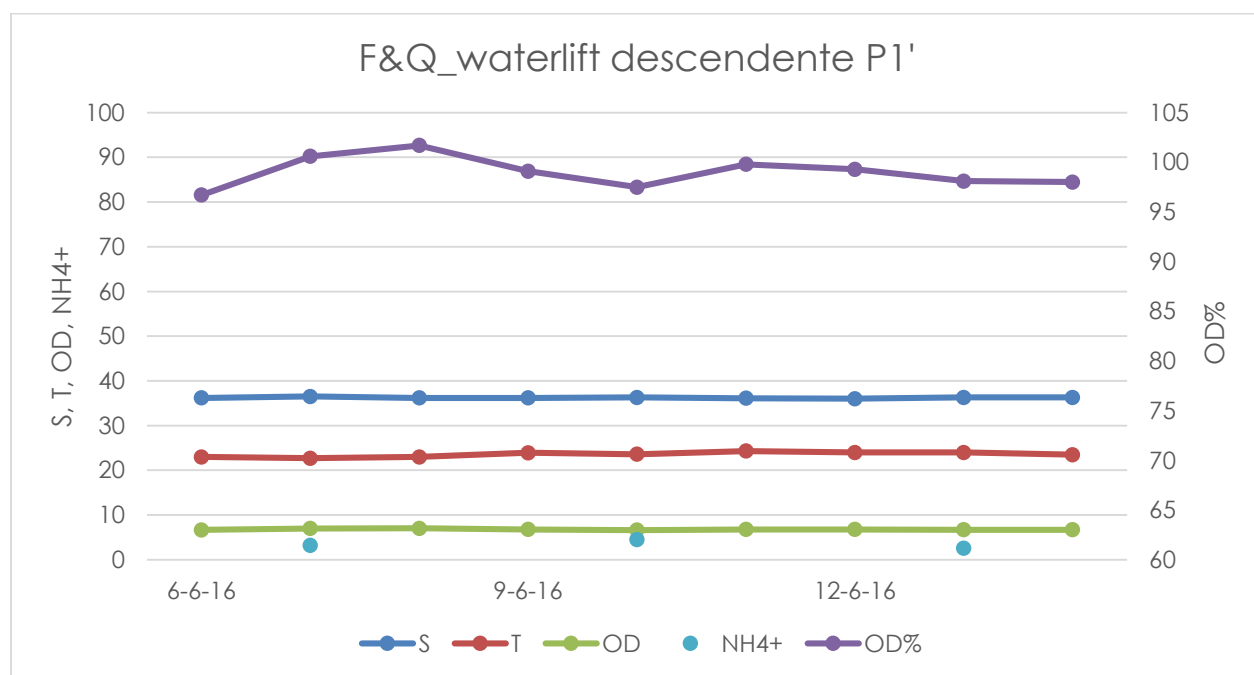


Figura 3.3: Características físico-químicas waterlift descendente P1'. S: salinidad (‰), T: temperatura (°C), OD: oxígeno disuelto (mg/L), NH₄⁺: amonio (μM), OD%: porcentaje saturación oxígeno.

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

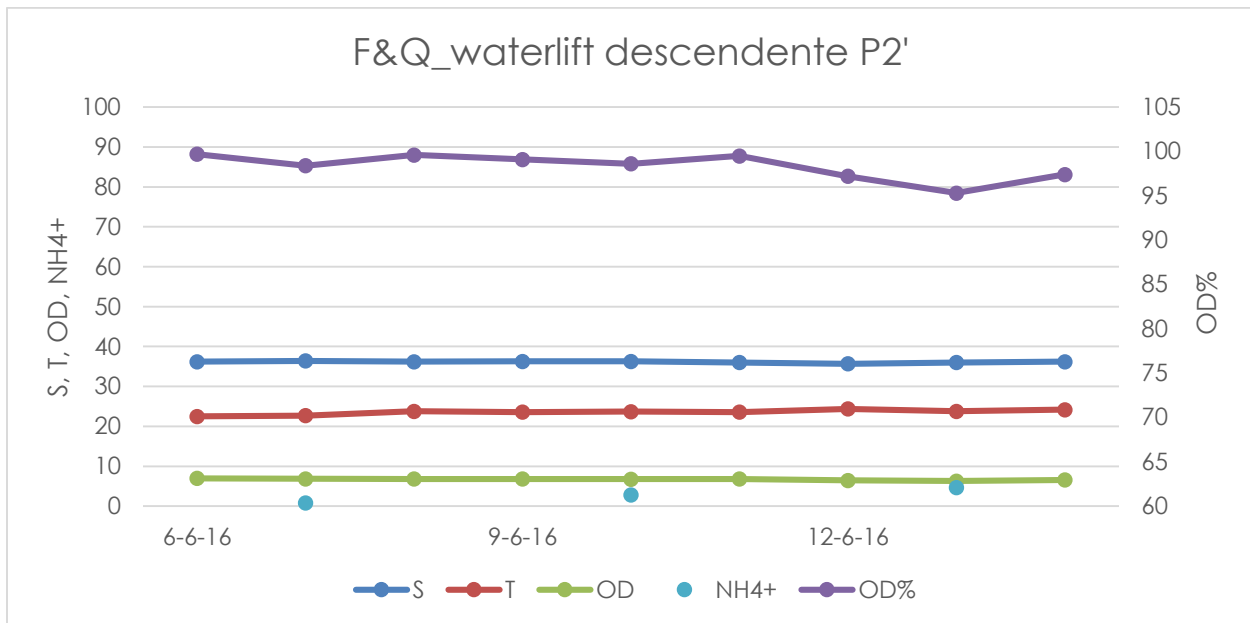


Figura 3.4: Características físico-químicas waterlift descendente P2'. S: salinidad (‰), T: temperatura (°C), OD: oxígeno disuelto (mg/L), NH₄⁺: amonio (μM), OD%: porcentaje saturación oxígeno.

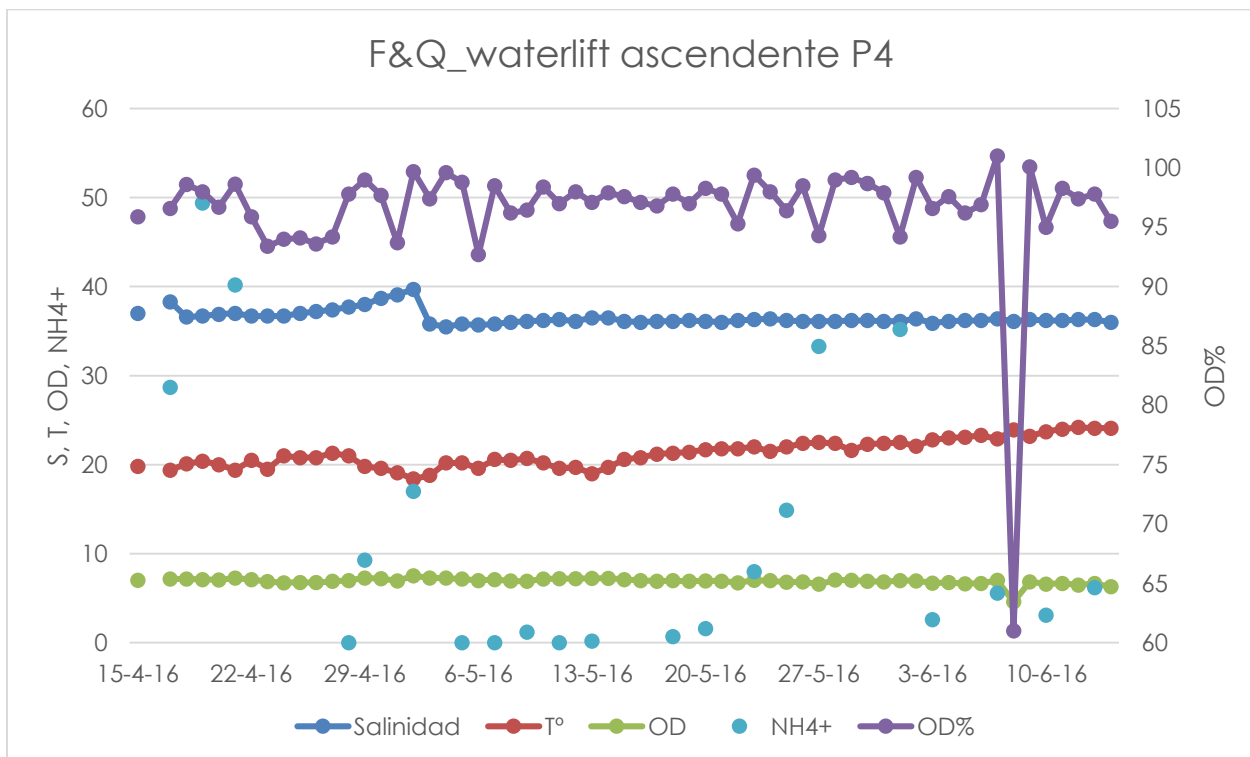


Figura 3.5: Características físico-químicas waterlift ascendente P4. S: salinidad (‰), T: temperatura (°C), OD: oxígeno disuelto (mg/L), NH₄⁺: amonio (μM), OD%: porcentaje saturación oxígeno disuelto (%).

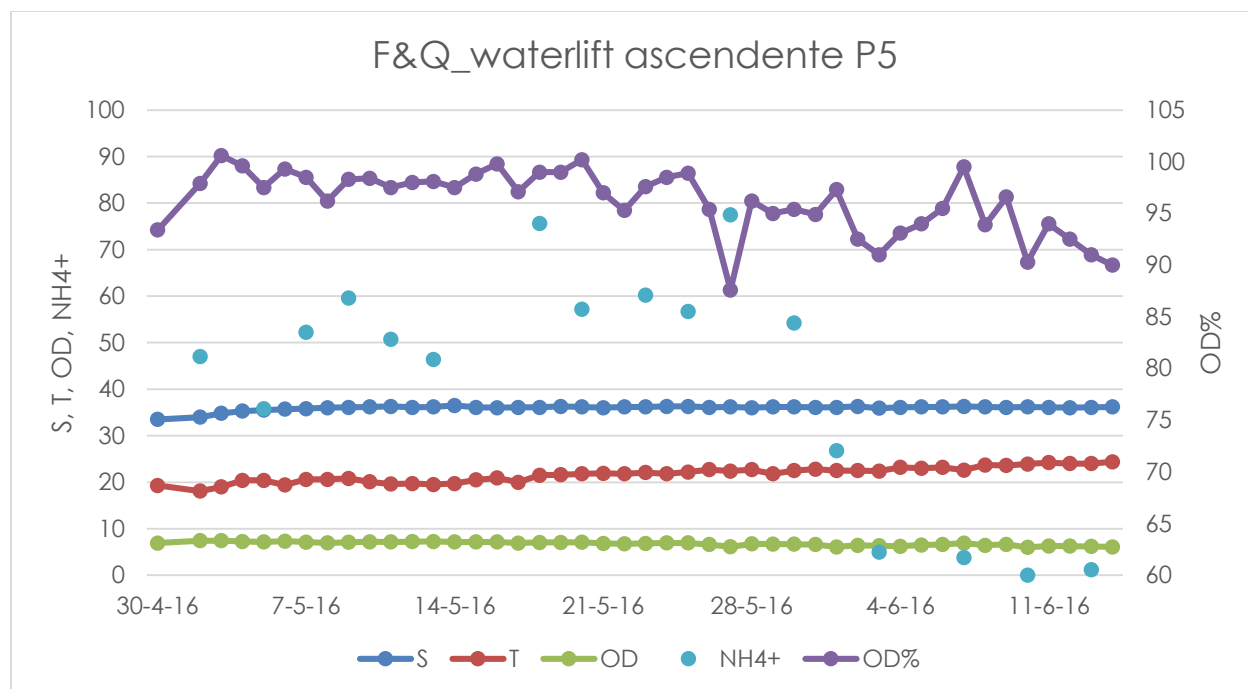


Figura 3.6: Características físico-químicas waterlift ascendente P5. S: salinidad (‰), T: temperatura (°C), OD: oxígeno disuelto (mg/L), NH₄⁺: amonio (µM), OD%: porcentaje saturación oxígeno disuelto (%).

Los parámetros analizados (Salinidad, temperatura, oxígeno disuelto en concentración y porcentaje de saturación y amonio) han sido explicados a continuación, sus fluctuaciones, causas y efectos:

- **Salinidad:** Durante toda la toma de datos la salinidad se mantuvo entre 33,5 y 39,8 ‰. Previa a la introducción de las tellinas en cada pecera se ajustó la salinidad a 36 ‰ y se procuró mantener una estabilidad entre 35,8 y 36,3‰. Se corregía de forma diaria los valores con la adición de agua destilada, dado que los cambios siempre eran incrementos de la salinidad por la evaporación.
- **Temperatura:** Aunque hubo oscilaciones diarias entre los 18 y los 23°C, la pauta general se mantuvo bastante estable hasta principios de junio en todas las peceras. El aumento de la temperatura ambiental, propició también el incremento de la temperatura del agua en los 4 acuarios, siempre dentro del margen de 22-25°C.
- **Amonio (NH₄⁺):** El amonio, se midió cada dos días aproximadamente para mantener controlados los niveles, dado que este compuesto es tóxico para los organismos acuáticos por encima de ciertas concentraciones. El amonio aparece como primer producto de la descomposición de la materia orgánica, y es transformado, a nitrito por actividad microbiana del género *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus* y después a nitrato gracias a bacterias del género *Nitrobacter*.

Durante el primer mes de acondicionamiento, se nota un brusco incremento del amonio en las peceras P1 y P2 (figuras 3.1 y 3.2), llegando a valores de casi 90 μM , pero desde finales de mayo, empieza a notarse el efecto de la actividad microbiológica de las bacterias nitrificantes, propiciando el descenso, y estabilidad a bajos niveles del amonio. Durante las semanas de alto valor del amonio, se realizaban de forma asidua cada vez que se requería, cambios de la mitad del volumen de agua, para disminuir los niveles. P1' y P2' eran peceras ya maduras, por tanto, los niveles de amonio eran nulos o despreciables. En el caso de P4 desde el principio tuvo niveles muy bajos de amonio, con un pequeño incremento entre finales de mayo y principios de junio, que rápidamente disminuyó en los días siguientes. La pecera P5 siguió la misma pauta que P1 y P2, aunque con niveles más bajos, a principio del experimento un aumento de los valores y después una estabilidad por debajo de 10 μM .

- Oxígeno disuelto (OD): Para garantizar unos niveles de oxígeno adecuados, por encima del 90% de forma continuada, se utilizaron varios aireadores por pecera obteniendo valores diarios dentro del rango de 90-100% de saturación con oxígeno; a pesar de la relativa estabilidad en el porcentaje de saturación del oxígeno, en las concentraciones se perciben oscilaciones entre 5,5 a 7,5mg/L que son debidas tanto a factores físico-químicos como biológicos. El factor físico-químico que afecta al oxígeno disuelto en agua, y que varía en nuestro experimento es la temperatura, dado que presión, y salinidad son estables. Cuanto mayor es la temperatura, menor el oxígeno disuelto, aunque este hecho se ve alterado con los factores biológicos. Los factores biológicos que afectan al OD, son la presencia de materia orgánica (que requiere oxígeno para oxidarse), la adición diaria de fitoplancton, que produce oxígeno en la fotosíntesis, o la respiración de las propias tellinas, que consumen oxígeno.

Es destacable, en la figura 3.5 (correspondiente al waterliff ascendente P4) un brusco descenso de oxígeno disuelto el día 8 de junio, hasta el 60%, debido a un pinzamiento en el tubo del aireador. En cambio, P1, P2, P1' y P2' (Figuras 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4 correspondientemente) tienen valores por encima del 90% durante todo el experimento, y P5 (Figura 3.6) no baja del 85%.

En el caso de las figuras 3.3 y 3.4, correspondientes al P1' y P2', al estar el sistema ya estabilizado y tener una duración escasa, absolutamente todos los parámetros son regulares, dentro de unas oscilaciones diarias previsibles.

Los resultados obtenidos reflejan una relativa sencillez de control y manejo. El aumento de la salinidad por la evaporación se compensa fácilmente, la temperatura es adecuada debido al clima templado en el que se está realizando el estudio, el oxígeno es fácilmente controlable con el uso de aireadores, y el amonio una vez alcanzada la madurez del acuario, prácticamente inexistente.

3.3 Inducción al desove

En la tabla 3.1, se organiza con colores el método de inducción seguido, y con asteriscos aquellos métodos en los que se obtuvieron oocitos (gametos femeninos), espermatozoos (gametos masculinos) o huevos fecundados, así como las fechas de realización.

Tabla 3.1: Resultados del desove:

Fecha	Nº Intento	P1	P2	P1'	P2'	P4	P5	Extr	Tipo de inducción
17-may	1	7h	****						Seco
24-may	2								Choque gradual
26-may	1								Choque mixto
31-may	3	**							Choque brusco
02-jun	2					8h **			16°C
06-jun	4	**	8h		**			****	
10-jun	3						8h	****	
13-jun	5								

****=fecundados, **=esperma, ***=oocitos, Ext: Extracción forzada

- Pecera P1:** En el primer intento del 17 de mayo se utilizó la técnica en seco; tras 7h de exposición al aire, se introdujeron los organismos en agua estéril a temperatura ambiente durante 4 h donde se controló la posible liberación de gametos que no se produjo.

Tras una semana mínimo de descanso de los organismos (JACUMAR, 2009), el 24 de mayo se sometieron a un choque térmico brusco, sin resultados.

El 31 de mayo, siendo este el tercer intento, se probó con estas tellinas por primera vez el choque térmico gradual, obteniendo gametos masculinos muy abundantes, pero sin aparición de gametos femeninos y por lo tanto sin huevos fecundados.

El 6 de junio se repitió el choque térmico gradual, obteniendo de nuevo sólo gametos masculinos pero esta vez en escasas cantidades.
- Pecera P2:** En el primer intento del 17 de mayo se realizó con un choque térmico mixto, que comenzó siendo gradual y por motivos de tiempo, terminó de forma brusca. En esta ocasión, hubo liberación de ambos gametos por lo que se generaron huevos fecundados, con una densidad relativamente baja. Debido a la abundante presencia de fitoplancton que se introdujo durante el choque, se decidió filtrar el agua con una malla de poro de 50µm para retener los huevos (que tienen un tamaño medio de 85 µm (JACUMAR, 2009)). Tras esto, la densidad de huevos fecundados fue drásticamente reducida, por lo que no se volvió a filtrar en ningún intento.

El segundo intento, del 24 de mayo se realizó un choque brusco sin resultados.

El tercer intento se volvió a realizar un choque brusco sin resultados, por lo que el método del choque térmico brusco decidió descartarse.

En el cuarto intento correspondiente al 6 de junio, se realizó la técnica en seco durante 8h, sin obtener resultados.

- Pecera P1': La pecera P1' se utilizó a partir del 6 de junio(con los organismos de P1 y P2) por lo que se le realizó un único intento utilizando choque térmico gradual el día 13 de junio, sin resultados, probablemente por haber sometido a estos organismos a demasiado estrés ya.
- Pecera P2': Al igual que la P1', ésta se utilizó a partir del 6 de junio, teniendo los organismos recolectados en el tercer muestreo, procedentes del mar (cuya temperatura era 21,5°C), sin aclimatación, en agua estéril a 16°C con aireación. Se obtuvo abundante esperma a las 3h de haber comenzado la inducción. Una semana después, el 13 de junio se realizó un choque gradual sin resultados.
- Pecera P4: El primer intento se hizo el 26 de mayo, antes del mes de aclimatación de estos organismos, con un choque térmico brusco. No se obtuvieron resultados, y no se volvió a usar esta técnica.
El 2 de junio, se realizó un segundo intento, con la técnica en seco durante 8h, obteniendo, tras la inmersión en agua, tres pequeñas bolitas de gametos masculinos.
En el tercer intento, del 10 de junio, se realizó un choque gradual sin resultados.
- Pecera 5: Al igual que en P4, el primer intento se realizó el 26 de mayo, aplicando un choque térmico brusco en el que no hubo liberación de gametos.
El 2 de junio se realizó un choque gradual sin resultados.
En el tercer y último intento del 10 de junio, se aplicó la técnica en seco durante 8h sin resultado alguno.

Por otro lado, los días 6 y 10 de junio se realizaron extracciones forzadas con las tellinas sobrantes recolectadas en el tercer muestreo. El día 6 se abrieron 4 hembras y 2 machos, obteniendo abrumadoras cantidades de gametos tanto masculinos como femeninos, y por tanto gran cantidad de huevos fecundados. El 10 de junio se abrieron 2 tellinas más de cada sexo, aunque menos maduras sexualmente dado que eran más pequeñas. Aunque se obtuvo menos cantidad de gametos, la fecundación de los mismos fue igual de efectiva.

Los resultados de la inducción aparentemente se comprueba que es más ineficaz ha resultado ser el choque brusco, con el cual no se obtuvo ni un solo desove; La técnica en seco tampoco parece haber sido muy eficaz, ya que hubo liberación de gametos escasa y solo en una ocasión. El choque térmico gradual ha resultado la técnica más eficaz de las no invasivas, teniendo liberación de gametos masculinos con relativa frecuencia, aunque no femeninos. En definitiva, el método que mejores resultados obtuvo fue la extracción forzada, pero con el dilema moral que conlleva la muerte de los organismos reproductores.

3.4 Cultivo larvario

En las figuras 3.7 y 3.8 se observan distintos estadios de huevos fecundados obtenidos en aquellos intentos en los que se logró la fecundación. En la tabla 3.2 (JACUMAR, 2009), se muestra la evolución por tamaño y tiempo de los huevos. El máximo estadio que se aprecia en las figuras 3.7 y 3.8, es de 4 células a las 2h 05' de la fecundación.

Tabla 3.2: Evolución de los huevos fecundados.

Estadios	Tiempo y talla
Huevo	0 h (85 μm)
2 células	1 h 15'
4 células	2 h 05'
8 células	3 h 05'
16 células	4 h 20'
32 células	5 h 20'
Blástula	7 h 20'
Gástrula	9 h 40'
Trocófora	13 h 45' (95 μm)
Larva D	41 h 45' (105 μm)
Umbonada	8 días (130 μm)
Pediveliger	22 días (211 μm)
Postlarva	31 días (256 μm)

En la práctica, se comprobó en las revisiones diarias de la densidad de huevos obtenidos, que la fase de 48h era crítica, muriendo la gran mayoría de huevos, o no habiendo evolucionado en los estadios de crecimiento. También se notó un crecimiento importante de protozoos. Por si la agitación del agua provocada por el aireador era demasiado fuerte, un par de las puestas se mantuvo con aireación suave obteniendo similares resultados.

Semanas después se siguió haciendo un seguimiento de los huevos fecundados. La densidad disminuyó bruscamente hasta resultar difícil encontrar larvas. Tras el mes de cultivo, debería intentarse la fijación de la larva en sustrato.

Parece que la etapa más crítica es la del cultivo larvario debido a la baja tasa de supervivencia. Aun así el índice de supervivencia en estudios previos (Ruiz Azcona, 2013) es inferior al 15% en el mejor de los casos, por lo que los resultados, pueden clasificarse como "esperados".

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

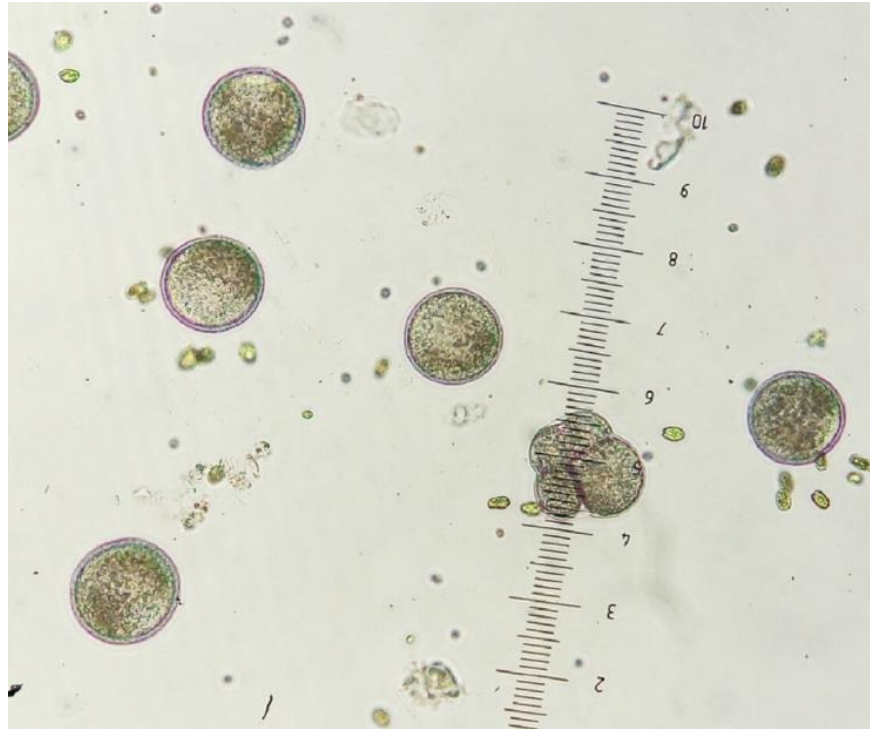


Figura 3.7: Huevos fecundados. Fuente: Propia

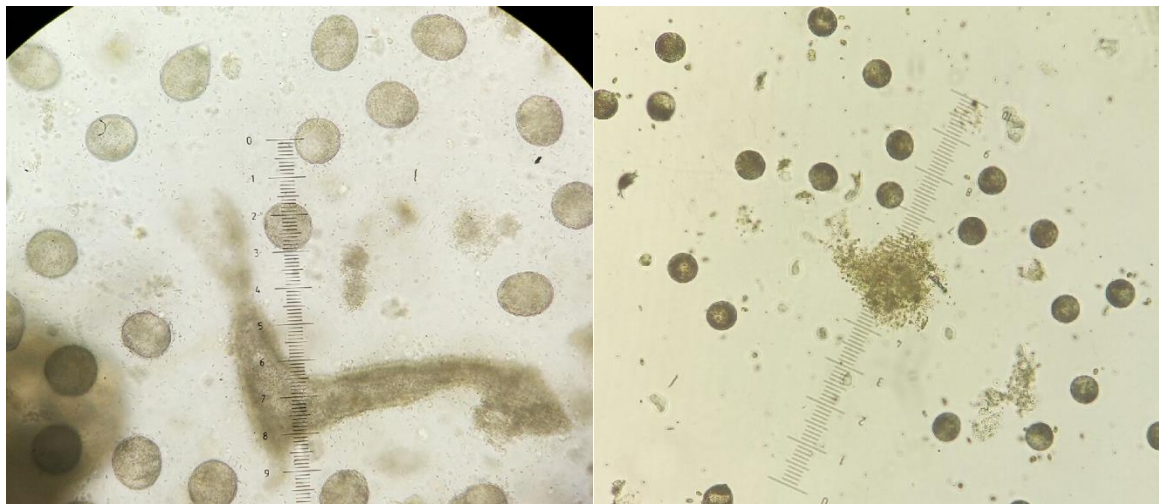


Figura 3.8: Fotografías de los huevos a distintos aumentos(x20, x10). Fuente: Propia.

4. Conclusión

Hoy en día, dado el intenso marisqueo que ha diezclado la población de tellinas en el litoral valenciano, se hace imprescindible buscar formas alternativas al crecimiento natural, para repoblar y ayudar al ecosistema a volver a su anterior situación. Este estudio ha tratado de facilitar ese objetivo general a través del cultivo y la reproducción de tellinas a pequeña escala, con el fin de extrapolarlo a grandes instalaciones. Las conclusiones en líneas generales:

- Es sencillo mantener la población de tellinas vivas, teniendo unos porcentajes de supervivencia altos (90%) durante el experimento, con una instalación y mantenimiento sencillos y una alimentación relativamente fácil de establecer.
- Se logró inducir el desove mediante la técnica del choque térmico gradual en numerosas ocasiones, aunque con mayor aparición de gametos masculinos que femeninos. El método de la exposición en seco ha resultado tener una eficacia muy baja, consiguiendo el desove en escasas cantidades y pocas ocasiones.
- La extracción forzada es el método más eficaz, obteniendo gametos y fecundación en grandes cantidades, con la muerte de pocos individuos (con 4 ejemplares podría obtenerse muchas larvas de tellina).
- Durante la incubación de los huevos fecundados se diezma notablemente la densidad, haciéndose necesario realizar más pruebas para encontrar el motivo.

Este estudio podría ser un buen comienzo para la repoblación de la especie, pues encauza los métodos y los requerimientos que deben plantearse durante experimentos como este, recalcando la necesidad de seguir experimentando hasta obtener resultados exitosos que proporcionen una ayuda a la recuperación de las poblaciones naturales.

5. Referencias

- Ajuntament el Real de Gandía [En línea]. Disponible en: <http://www.realdegandia.es/es/page/localizacion> [Último acceso: 22/06/2016]
- Aminot, A., Chaussepied, M., 1983. *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. CNEXO, Brest, 395 pp.
- WoRMS Editorial Board, 2016. *World Register of Marine Species*. [En línea] Disponible en: <http://www.marinespecies.org> [Último acceso: 03/03/2016]
- Baker, A.L.; et al, 2012. *Phycokey—an imagen base key to algae(PS Protista), Cyanobacteria, and other aquatic objects*. [En línea]. Disponible en: <http://cfb.unh.edu/phycokey/phycokey.htm> [Último acceso: 30/06/2016]
- Bizarro Álvarez, I., 2015. Biomarcadores en tellinas: uso de Retención de rojo neutro. Trabajo final de grado. Gandía: Universidad politécnica de Valencia: Escuela Politécnica Superior de Gandía.
- Delgado, M.; Silva, L.; Martínez, E.; Vila, Y.; Cojan, M.; Quesada, L.; Salguero, L.; Gamero, J., 2014. *Análisis cuantitativo del período reproductor de Donax trunculus Linnaeus 1758 (Mollusca: Bivalvia) en el litoral de Huelva: Influencia de la talla y variaciones temporales*. Cádiz.
- Fernández Otero, J., 1982. *Aportación al estudio de la biología del bivalvo Donax trunculus L. en la Ría de Barquero*. Galicia: Universidad de Santiago de Compostela.
- Gaspar, M.B.; Ferreira, R.; Monteiro, C.C., 1999. *Growth and reproductive cycle of Donax trunculus L (Mollusca: Bivalvia) off Faro, southern Portugal*. Fisheries Research, 41(Elsevier Science), pp. 309-316.
- Gofas, S.; Moreno, D.; Salas, C., 2011. *Moluscos marinos de Andalucía*. Málaga: Servicio de publicaciones e intercambio científico, Universidad de Málaga.
- Grupo de investigación UCM n°910801, 2015. Biodiversidad y taxonomía de Plantas Criptógamas. [En línea]. Disponible en: http://escalera.bio.ucm.es/usuarios/criptogamas/plantas_criptogamas/material_es/algas.html [Último acceso: 24/06/2016]
- Helm, M.; Bourne, N.; Lovatelli, A., 2006. *Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico*. Roma: FAO Documento Técnico de Pesca 471.
- JACUMAR, 2009. *Cultivo de nuevas especies de moluscos bivalvos de interés en Hatcheries*, Galicia.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente., 2015. [En línea] Disponible en: http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/0011coquina_tcm7-354964.pdf [Último acceso: 20/06/2016]
- Poppe, G.T.; Goto, Y., 1993. *European Seashells*. 2000 ed Hackenheim: Conchbooks.
- RESOLUCIÓN 2015/5427 de 3 de junio de 2015, de la Consellería de Presidencia y Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua, por la que se establecen los límites anuales de captura de chirla y tellina con dragas mecanizadas en aguas de la Comunitat Valenciana. [En línea]. Disponible en:

http://www.docv.gva.es/index.php?id=26&L=1&tipo_search=legislacion&numero=6&TD=Resoluci%F3n&sig=005199/2015 [Último acceso: 22/06/2016]

- Ruiz Azcona, P., 2013. *Guía de cultivo en criadero de Longueirón y Coquina*. Huelva: Consejería de Agricultura, Pesca y desarrollo rural, instituto de investigación y formación agraria pesquera.
- Ruiz Azcona, P.; Rodríguez Sierra, R.; B. Martín, J., 1996. *Culture of Coquina clam, Donax trunculus, larvae*. *Aquaculture*, 139(Elsevier Science), pp. 151-155.
- Shepard, F.P., 1954. *Nomenclature based on sand-silt-clay relations*. *Journal of Sedimentary Petrology*, 24: 151–158.
- Soler Díaz, J. I. A., 2015. *La gastronomía de José Saler. Pequeña enciclopedia gastronómica*. [En línea]. Disponible en: http://www.gastrosoler.com/pagina_nueva_183.htm [Último acceso: 02/03/2016]
- Tamayo Goya, J., 2016. *Coquina, Tellina... Donax trunculus* [En línea]. Disponible en: <http://coquina-tellina.net/> [Último acceso: 22/06/2016]
- Zeichen, M.M.; Agnesi, S.; Mariani, A.; Maccaroni, A.; Ardizzone, G.D., 2002. *Biology and population dynamics of Donax trunculus L. (Bivalvia: Donacidae) in the south Adriatic Coast (Italy)*. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 54 (AP), pp. 971-982.

Anexos

ANEXO 1

Volumen de nutrientes según el volumen de agua estéril y filtrada.

H ₂ O mL	500
Nitrato mL	0,325
Fosfato mL	0,325
Silicio mL	1
TRIS mL	2,5

ANEXO 2

Tablas de valores físico químicos utilizados para los gráficos de las 4 peceras.

Tabla P1

Fecha	Salinidad	Tª (Cº)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
15-4-16	38,8	19,2	7,16	96,6		
16-4-16	39,1	19,4	7,16	96,6		
17-4-16	37,7	19,2	7,14	96,4	11,3	
18-4-16	35,5	19,8	7,23	98,6		primeros individuos
19-4-16	35,7	20	7,15	97,9	31,8	
20-4-16	35,6	20,2	7,18	98,5		
21-4-16	35,6	19,8	7,26	98,8	58,5	
22-4-16	35,7	20,1	7,24	99,6		
23-4-16	35,8	19,8	7,28	99,2		
24-4-16	35,8	19,9	7,11	97,1		
25-4-16	35,4	20	7,26	99		Cambio 7L agua
26-4-16	35,6	20	7,31	99,4		
27-4-16	35,7	20,2	7,21	98,6		
28-4-16	36	19,8	7,27	98,6	68,3	
29-4-16	36	19,2	7,39	99,3	55,1	
30-4-16	36,3	19,1	7,29	98,1		
1-5-16	36,1	18	7,49	98,9		
2-5-16	36,4	17,8	7,56	99,3	69,2	
3-5-16	35,7	18,9	7,43	100		Cambio 5,5L agua
4-5-16	35,9	19,4	7,4	100,2		
5-5-16	36,1	19,1	7,35	99,1	48,2	
6-5-16	36,2	19	7,4	99,3		
7-5-16	36,3	19,5	7,12	97,2	65,04	
8-5-16	36,2	19,5	7,07	95,8		
9-5-16	36,2	20,5	7,19	99,2	59	

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Fecha	Salinidad	Tª (Cº)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
10-5-16	36,2	18,8	7,31	98,5		
11-5-16	36,4	19,4	7,3	98,6	73,4	
12-5-16	36,3	18,4	7,42	98,7		
13-5-16	36,6	19,2	7,33	98,8	70,7	
14-5-16	36,7	19	7,74	102,3		
15-5-16	36,3	20,4	7,19	99,3		
16-5-16	36,1	19,9	7,33	100,4		
17-5-16	36,3	21	7,13	99,8		cambio 6L
18-5-16	36,3	21,3	7,18	100,8	86,4	
19-5-16	36,2	20,8	7,3	101,2		
20-5-16	36,3	21,9	7,08	100	55,1	
21-5-16	36,2	20,9	7,21	100,5		
22-5-16	36,2	21,9	7,21	100,6		
23-5-16	36,3	21,3	7,24	101,3	28,5	
24-5-16	36,3	21,6	7,08	100,4		
25-5-16	36,3	21,4	7,07	99,2	18,2	
26-5-16	36,2	22,5	6,94	99,4		
27-5-16	36,1	21,7	7,05	99,3	8,9	
28-5-16	36,3	22,1	7,02	99,7		
29-5-16	36,2	20,3	7,2	99,4		
30-5-16	36,2	20,5	6,95	99,5	4,7	
31-5-16	36,3	21,9	6,8	96,5		
1-6-16	36,3	22,3	7,09	99,7	2	
2-6-16	36,3	22,4	6,83	97,6		
3-6-16	36	22,1	6,65	95	4,7	
4-6-16	36,2	23,1	6,82	98,6		
5-6-16	36,1	22,3	6,9	98,5		
6-6-16	36,2	23	6,68	96,7		juntado P1+P2
7-6-16	36,5	22,7	7	100,6	3,2	
8-6-16	36,2	23	7,04	101,7		
9-6-16	36,2	23,9	6,76	99,1		Muerte 1 tellina P1'
10-6-16	36,3	23,6	6,64	97,5	4,5	
11-6-16	36,1	24,3	6,76	99,8		
12-6-16	36	24	6,79	99,3		
13-6-16	36,3	24	6,69	98,1	2,6	
14-6-16	36,3	23,5	6,7	98		

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Tabla P2

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (Cº)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
15-4-16	38,7	19,2	7,22	97,2		
16-4-16	39	19,1	7,21	96,8		
17-4-16	37,7	19,1	7,19	96,4	11,3	
18-4-16	35,9	19,9	7,23	98,8		Primeros individuos
19-4-16	36	20,2	7,15	98	23	
20-4-16	35,8	20,4	7,19	99,1		
21-4-16	35,6	20	7,2	97,9	44,6	
22-4-16	35,7	20	7,23	99,6		
23-4-16	36	19,4	7,32	99		
24-4-16	35,9	20,1	7,13	97,7		
25-4-16	35,9	20	7,28	99,2		cambio de 7L
26-4-16	35,5	19,9	7,31	99,1		
27-4-16	35,7	20,3	7,19	98,8		
28-4-16	35,8	20	7,2	98,3	52,1	
29-4-16	36	19,4	7,33	99,1	53,4	
30-4-16	36,1	19,3	7,29	98,6		
1-5-16	36,2	18,3	7,41	98,4		
2-5-16	36,3	17,6	7,69	100,8	65,1	
3-5-16	35,4	18,9	7,5	100,4		cambio de 5,5L
4-5-16	35,8	19,5	7,45	100,4		
5-5-16	36	20,1	7,3	100	46,3	
6-5-16	36,1	19,2	7,38	99,6		
7-5-16	36,1	19,4	7,36	99,6	69	
8-5-16	36,2	20,2	7,05	97		
9-5-16	36,1	19,9	7,21	98,4	80,7	
10-5-16	36,3	19,5	7,22	98,4		
11-5-16	36,2	18,6	7,35	98,2	79,1	
12-5-16	36,5	19,2	7,38	99,2		
13-5-16	36,6	19	7,4	99	75,3	
14-5-16	36,7	19,3	7,44	100,5		
15-5-16	36,2	19,4	7,34	99,5		
16-5-16	36,1	20,4	7,27	100,4		
17-5-16	36,3	21	7,13	99,8		cambio 6L
18-5-16	36,3	21,3	7,18	94,6	90,9	
19-5-16	36,2	20,8	7,3	101,3		
20-5-16	36,3	21,9	7,08	99,5	87	

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (C°)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
21-5-16	36,2	20,9	7,21	99,2		Cambio 4L
22-5-16	36,2	21,9	7,21	100,6		
23-5-16	36,3	21,3	7,24	100,9	56,4	
24-5-16	36,3	21,6	6,75	99,3		
25-5-16	36,3	22	6,94	98,4	39,4	
26-5-16	36,2	21,7	7,04	99,7		
27-5-16	36,3	22,4	6,96	99,3	8,5	
28-5-16	36,1	21,3	7,09	99,6		
29-5-16	36,3	21,6	7,08	99,5		
30-5-16	36,3	21,6	6,96	98,1	2,4	
31-5-16	36,2	22,7	6,88	98,4		
1-6-16	36,2	21,7	7,04	99,4	0	
2-6-16	35,4	22,6	6,9	98,9		muerte 1 tellina
3-6-16	36,1	23	6,67	96,2	1,3	
4-6-16	36,1	22,3	6,95	99,4		
5-6-16	36,2	23	6,7	96,6		
6-6-16	36,2	22,5	6,97	99,7		Nuevas tellinas
7-6-16	36,4	22,7	6,85	98,4	0,8	
8-6-16	36,2	23,8	6,84	99,6		
9-6-16	36,3	23,6	6,82	99,1		muerte 1 tellina P2'
10-6-16	36,3	23,7	6,78	98,6	2,8	muerte 1 tellina P2'
11-6-16	36	23,6	6,81	99,5		
12-6-16	35,7	24,4	6,48	97,2		
13-6-16	36	23,8	6,29	95,3	4,7	
14-6-16	36,2	24,2	6,58	97,4		

Tabla P4

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (C°)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
15-4-16	37	19,8	7,01	95,9		
16-4-16						
17-4-16	38,3	19,4	7,15	96,6	28,7	
18-4-16	36,6	20,1	7,18	98,6		
19-4-16	36,7	20,4	7,1	98	49,4	
20-4-16	36,9	20	7,06	96,7		
21-4-16	37	19,4	7,27	98,7	40,2	
22-4-16	36,7	20,5	7,095	95,9		

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (C°)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
23-4-16	36,7	19,5	6,87	93,4		
24-4-16	36,7	21	6,75	94		
25-4-16	37	20,8	6,78	94,1		
26-4-16	37,2	20,8	6,76	93,6		
27-4-16	37,4	21,3	6,9	94,2		
28-4-16	37,7	21	7	97,8	0	
29-4-16	38	19,8	7,29	99	9,3	
30-4-16	38,7	19,6	7,2	97,7		
1-5-16	39,1	19,1	6,96	93,7		
2-5-16	39,7	18,4	7,51	99,7	17	
3-5-16	35,8	18,8	7,29	97,4		800mL destilada; primeros individuos
4-5-16	35,5	20,2	7,26	99,6		
5-5-16	35,8	20,2	7,15	98,8	0	
6-5-16	35,7	19,6	7	92,7		
7-5-16	35,8	20,6	7,11	98,5	0	
8-5-16	36	20,5	6,95	96,2		Muerte 1 tellina
9-5-16	36,1	20,7	6,91	96,45	1,2	
10-5-16	36,2	20,2	7,18	98,4		
11-5-16	36,3	19,6	7,2	97	0	
12-5-16	36,1	19,7	7,21	98		
13-5-16	36,5	19	7,23	97,1	0,2	
14-5-16	36,5	19,7	7,25	97,9		
15-5-16	36,1	20,6	7,11	97,6		
16-5-16	36	20,8	6,99	97,1		
17-5-16	36,1	21,2	6,92	96,8		
18-5-16	36,1	21,3	6,98	97,8	0,7	
19-5-16	36,2	21,4	6,91	97		
20-5-16	36,1	21,7	6,96	98,3	1,6	
21-5-16	36	21,8	6,92	97,8		
22-5-16	36,2	21,8	6,74	95,3		
23-5-16	36,3	22	7,01	99,4	8	
24-5-16	36,4	21,5	6,98	98		
25-5-16	36,2	22	6,8	96,4	14,9	
26-5-16	36,1	22,4	6,85	98,5		
27-5-16	36,1	22,5	6,59	94,3	33,3	
28-5-16	36,1	22,4	7,05	99		

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (C°)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
29-5-16	36,2	21,6	7,04	99,2		
30-5-16	36,2	22,3	6,92	98,7	51,6	
31-5-16	36,1	22,4	6,84	97,9		
1-6-16	36,1	22,5	7	94,2	35,2	
2-6-16	36,4	22,1	6,96	99,2		
3-6-16	35,9	22,8	6,7	96,6	2,6	
4-6-16	36,1	23	6,76	97,6		
5-6-16	36,2	23,1	6,63	96,2		
6-6-16	36,2	23,3	6,68	96,9		
7-6-16	36,4	22,9	7,01	101	5,6	
8-6-16	36,1	23,9	4,61	61		Sacado 1L- aireador pinzado
9-6-16	36,3	23,2	6,85	100,1		
10-6-16	36,2	23,7	6,6	95	3,1	
11-6-16	36,2	24	6,68	98,3		
12-6-16	36,3	24,2	6,5	97,4		
13-6-16	36,3	24,1	6,66	97,8	6,2	
14-6-16	36	24,1	6,3	95,5		

Tabla P5

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (C°)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
18-4-16	-	-	-	-		No existía
19-4-16	-	-	-	-		No existía
20-4-16	-	-	-	-		No existía
21-4-16	-	-	-	-		No existía
22-4-16	-	-	-	-		No existía
23-4-16	-	-	-	-		No existía
24-4-16	-	-	-	-		No existía
25-4-16	-	-	-	-		No existía
26-4-16	-	-	-	-		No existía
27-4-16	-	-	-	-		No existía
28-4-16	-	-	-	-		No existía
29-4-16	-	-	-	-		No existía
30-4-16	33,5	19,3	6,91	93,4		
2-5-16	34	18,1	7,43	97,9	47	

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (C°)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (μM)	Comentarios
3-5-16	34,8	19	7,43	100,6		cambio de 3L, primeros individuos
4-5-16	35,3	20,4	7,26	99,6		
5-5-16	35,5	20,4	7,14	97,5	35,8	
6-5-16	35,7	19,4	7,32	99,3		
7-5-16	35,8	20,6	7,11	98,5	52,21	
8-5-16	36	20,6	6,95	96,2		
9-5-16	36,1	20,8	7,08	98,3	59,6	
10-5-16	36,2	20,1	7,18	98,4		
11-5-16	36,3	19,6	7,17	97,5	50,7	
12-5-16	36,1	19,7	7,21	98		
13-5-16	36,2	19,5	7,27	98,1	46,4	
14-5-16	36,5	19,7	7,15	97,5		
15-5-16	36,1	20,5	7,17	98,8		
16-5-16	36	20,9	7,17	99,8		
17-5-16	36,1	20	6,93	97,1		
18-5-16	36,1	21,5	7,05	99	75,6	
19-5-16	36,3	21,6	7,04	99		
20-5-16	36,2	21,8	7,08	100,2	57,2	
21-5-16	36	21,9	6,85	97		
22-5-16	36,2	21,8	6,74	95,3		
23-5-16	36,2	22,1	6,86	97,6	60,2	
24-5-16	36,3	21,8	6,95	98,5		
25-5-16	36,3	22,2	6,95	98,9	56,7	
26-5-16	36,1	22,7	6,6	95,4		
27-5-16	36,2	22,4	6,11	87,6	77,5	
28-5-16	36	22,7	6,75	96,2		
29-5-16	36,2	21,8	6,72	95		
30-5-16	36,2	22,5	6,67	95,4	54,2	5,5L de agua cambiados
31-5-16	36,1	22,8	6,61	94,9		
1-6-16	36,1	22,5	6,1	97,3	26,8	
2-6-16	36,3	22,5	6,44	92,5		
3-6-16	35,9	22,4	6,33	91	5	
4-6-16	36,1	23,2	6,23	93,1		
5-6-16	36,2	23	6,51	94		
6-6-16	36,2	23,2	6,6	95,5		

Cultivo y reproducción de *Donax trunculus* en laboratorio

Fecha	Sal (mg/L)	Tª (Cº)	OD (mg/L)	OD%	NH ₄ ⁺ (µM)	Comentarios
7-6-16	36,3	22,6	6,93	99,5	3,8	
8-6-16	36,2	23,7	6,43	93,9		Sacado 0,5L
9-6-16	36,1	23,6	6,63	96,6		
10-6-16	36,2	23,9	6	90,3	0	
11-6-16	36,1	24,2	6,28	94		
12-6-16	36	24	6,27	92,5		
13-6-16	36,1	24	6,2	91	1,2	
14-6-16	36,2	24,4	6,1	90		