

Trabajos en el departamento de salud en Acuidoro S.L., Stolt Sea Farm, Cervo (Lugo)

Universidade da Coruña
Máster en acuicultura

Tutor: Carlos Pereira Dopazo

Alumno: Iván Rodríguez Cañas

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. EMPRESA.....	1
1.2. LOCALIZACIÓN, DISTRIBUCIÓN DE LA GRANJA Y BIOSEGURIDAD ...	1
1.3. BIOLOGÍA DE LAS ESPECIES CULTIVADAS.....	5
1.3.1. RODABALLO (<i>Scophthalmus maximus</i>).....	5
1.3.2. LENGUADO (<i>Solea senegalensis</i>).....	7
1.4. ANTECEDENTES Y METODOLOGÍA DE CULTIVO DEL RODABALLO Y LENGUADO	9
2. OBJETIVOS DE LAS PRÁCTICAS	16
3. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL DEPARTAMENTO DE SALUD	16
3.1. ACTIVIDADES EN LA <i>HATCHERY</i> , ENGORDE DE RODABALLO Y RAS DE LENGUADO.....	17
3.1.1. REVISIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE LA PLANTA.....	17
3.1.2. ANÁLISIS REALIZADOS.....	17
3.1.3. VALORACIONES RUTINARIAS.....	20
3.1.4. CONSERVACIÓN DE LAS VACUNAS	22
3.1.5. COMPROBACIÓN DE SUPERFICIES LIMPIAS.....	22
3.1.6. MANTENIMIENTO DE SONDAS DE OXÍGENO	23
3.1.7. ANÁLISIS DE AGUA DE LAS LÁMPARAS ULTRAVIOLETAS	24
3.1.8. OTROS ANÁLISIS O TAREAS	24
4. PATOLOGÍAS EN EL CULTIVO DEL RODABALLO Y LENGUADO	25
4.1. ENFERMEDADES BACTERIANAS	25
4.2. ENFERMEDADES VÍRICAS	27
4.3. ENFERMEDADES PARASITARIAS.....	28
4.4. ENFERMEDADES FÚNGICAS	31
5. CONCLUSIÓN.....	31
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EMPRESA

La empresa en la que el alumno desarrolla su periodo de prácticas, Acuidoro S.L., de Stolt Sea Farm, filial de la multinacional Stolt Nielsen Limited (SNL), fue adquirida en el año 2012 como planta de cría y engorde de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) en el polígono industrial Cuiña, en Cervo (Lugo), lo que permitió junto con la compra de Alrogal ese mismo año, elevar la capacidad de producción de rodaballo de Stolt Sea Farm a 5400 toneladas anuales. En el año 2019, se inicia dentro de la parcela de Acuidoro la construcción de una nueva nave con sistema de recirculación para engorde de lenguado (*Solea senegalensis*), la nueva especie por la que apuesta la empresa, que produce el primer pez en el año 2021 y una cantidad aproximada de 150 toneladas y 700.000 peces en el 2021, frente a las 637 toneladas de rodaballo con 1.026.000 peces.

Stolt Sea Farm en la actualidad, es líder en acuicultura terrestre y principal proveedor de rodaballo y lenguado. Tiene granjas en España, Portugal, Francia, Noruega e Islandia. En Galicia posee ocho granjas repartidas por la costa, siete en el mar Atlántico y una en el Cantábrico, Acuidoro, donde se producen alevines tanto de lenguado como de rodaballo para engordar en la propia granja hasta la venta o para ser enviados al resto de granjas españolas y de otros países.

1.2. LOCALIZACIÓN, DISTRIBUCIÓN DE LA GRANJA Y BIOSEGURIDAD

Dentro de los establecimientos acuícolas en España, el rodaballo y lenguado se cultivan en tierra firme en tanques construidos en obra en la costa y que obtienen su agua mediante bombeo desde captaciones en el mar o pozos (APROMAR, 2020). La principal razón del importante desarrollo del cultivo del rodaballo en Galicia es debido a las condiciones físico-químicas del agua de mar, que proporcionan unas temperaturas óptimas para su crecimiento (Rodríguez Villanueva, 2011). Es por ello por lo que la mayoría de las granjas de rodaballo en España se sitúan en Galicia y una pequeña parte en Cantabria.

La granja está situada a orillas del mar Cantábrico (Fig. 1), donde la temperatura anual oscila entre los 11°C en invierno hasta los 19-21°C en verano. Está dividida en tres naves: una *hatchery* (criadero) de rodaballo y lenguado, un engorde de rodaballo en circuito abierto y un engorde de lenguado en circuito cerrado (RAS). El circuito cerrado tiene una temperatura controlada en torno a 19-21°C durante todo el año con independencia del término período natural gracias a los sistemas de recirculación, a diferencia del circuito abierto cuya temperatura oscila durante el año.



Fig. 1: Localización de la granja en Cervo (círculo rojo; izquierda) y distribución de las tres naves que la componen (derecha)

La nave de la *hatchery* está compuesta por tres zonas: la *hatchery* de lenguado, la *hatchery* de rodaballo, y una zona de cultivos auxiliares (rotífero y artemia) y microalgas. La *hatchery* de rodaballo consta de tres zonas (módulos) de larvario, tres de postlarvario y dos de preengorde. La de lenguado consta de los mismos módulos a diferencia de que solamente tiene uno para el preengorde.

La nave para el engorde de rodaballo, por un lado, tiene una *nursery* dotada de medidas de bioseguridad propia, donde entran todos los alevines de la *hatchery* para preengorde y cuarentena (4 módulos) y por otro lado el propio engorde que también cuenta con medidas de bioseguridad propias y está dividido en tres módulos (A, B y C), donde se distribuyen los peces por edades y tamaños. El engorde contiene 670 tanques, con dos letras y un número como referencia para nombrarlos. La primera letra hace referencia al módulo (A, B y C) y la segunda al tamaño del tanque, que puede ser pequeño, mediano o grande (P,

M y G respectivamente), siendo los tanques AG, BG y CG los que contienen los peces de mayor tamaño y normalmente los destinados para ventas.

El engorde de lenguado se lleva a cabo en una nave de tres plantas con un sistema de recirculación (RAS) independiente para cada una. La planta más alta (P2) es un preengorde donde se trasladan los lenguados de la *hatchery* y cuenta con 24 tanques AN (*nursery*) y 20 tanques AP (preengorde); la planta intermedia (P1) y la baja (P0) son para el engorde y es en la planta baja donde se hacen los despesques para la venta. En la planta P1 hay 24 tanques (AG) y en P0 hay otros 20 tanques (AG). En cada planta hay un sistema de clasificación de tamaños por rodillos ajustables en altura, tras el cual los peces caen a la planta baja por gravedad a través de conductos suministrados con agua de los propios tanques, de manera que se aprovecha el agua para el nuevo destino y así poder proceder a la limpieza de los tanques una vez vaciados.

En cuanto al agua suministrada a la granja, en el engorde de rodaballo entra por gravedad desde el mar a un pozo de bombas (Fig. 2a), pasando primero por un sistema de retirada de algas o de cualquier elemento grueso que pudiese atascar los filtros (Fig. 2b). Estas algas son atrapadas con unos cepillos metálicos y a través de una cinta transportadora (Fig. 2c) se acumulan en contenedores (Fig. 2d) para su posterior retirada por una empresa externa.



Fig. 2: pozo de bombas (2a), sistema de retirada de algas (2b), cinta transportadora (2c) y contenedores (2d).

A partir del pozo de bombas, el agua es bombeada hacia el pozo de captación situado encima a mayor altura, para permitir que el agua acceda a la granja por gravedad, pero antes pasa por filtros cónicos de tambor (Fig. 3a) que se encargan de eliminar restos más finos de algas, luego es desinfectada por luz ultravioleta (Fig. 3b) y por último enriquecida en oxígeno gracias a las turbinas en los pozos de oxigenación (Fig. 3c). Esta agua entra con

una concentración de oxígeno de hasta 15 ppm en el engorde a través de un canal abierto (para asegurar una saturación suficiente para el cultivo intensivo) distribuyéndose por los tanques mediante tuberías de PVC de diferentes secciones a las distintas zonas de la instalación.

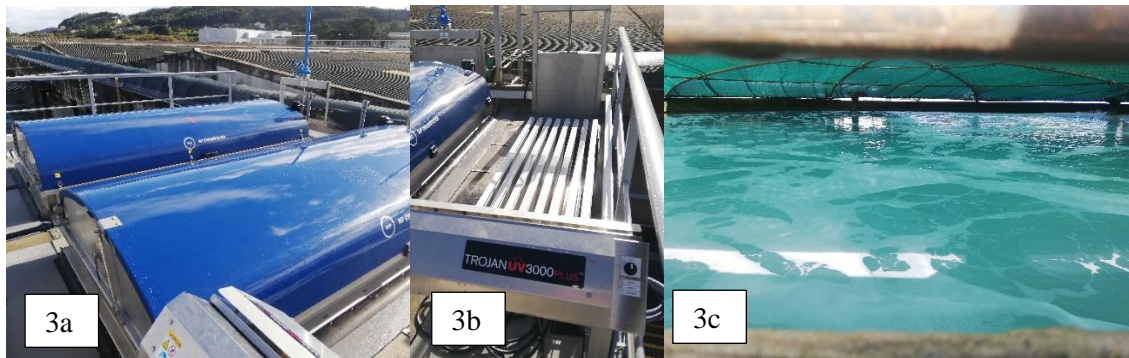


Fig. 3: filtros mecánicos cónicos (3a), lámparas ultravioletas (3b) y pozo de oxigenación (3c)

La *nursery* (preengorde y cuarentena) además de esta filtración, cuenta con filtros de tambor y otras lámparas UV. Parte de esta agua filtrada para la *nursery*, también es destinada para el RAS de lenguado, con una renovación de agua nueva de un 6-10% diario. Esta renovación en el RAS cuenta con rejillas de filtración primaria en la arqueta de recepción de agua de mar, filtros de cartucho y desinfección con luz ultravioleta para el tratamiento de agua de entrada para cada uno de los pisos. Los equipos de filtración propios del RAS son filtros mecánicos de tambor cónicos para eliminar sólidos en suspensión, un skimmer para eliminar compuestos orgánicos disueltos antes de que se descompongan en residuos nitrogenados, biofiltros para eliminar los compuestos nitrogenados tóxicos, unos segundos filtros de tambor, lámparas ultravioleta para esterilizar el agua y una vez el agua está filtrada es bombeada a un depósito a mayor altura donde se oxigena para descender por gravedad a los tanques.

La *hatchery* filtra el agua a parte desde el pozo de bombas del engorde con filtración propia, mediante filtros de tambor, skimmers, filtros de arena, filtro biológico, torre de desgasificación, oxigenación y lámparas UV. La *hatchery* de lenguado tiene un sistema mixto, cuenta con un RAS con un 50% de renovación y también con un circuito abierto. La *hatchery* de rodaballo capta el agua filtrada en un circuito de tanques abierto. Además, esta agua suministra a los cultivos auxiliares de rotífero, artemia y al de microalgas.

Relacionado con la construcción de la granja, son de gran importancia las medidas de bioseguridad implementadas para aislar y proteger de contaminación externa los diferentes

módulos. Tanto la *hatchery*, *nursery*, engorde de rodaballo como el RAS de lenguado, cuentan con las divisiones necesarias para separar y proteger cada especie, fase del cultivo y cultivos auxiliares, con las medidas higiénicas que el personal debe emplear para acceder a cada módulo, como son entradas independientes con pediluvios y alcohol sanitario en las mismas para la desinfección de manos, contando además cada módulo con material exclusivo que se debe mantener siempre en las mejores condiciones de limpieza y esterilidad posibles, sin haber un intercambio de materiales entre los diferentes módulos. Además, el personal asignado a cada módulo no rota entre ellos, a excepción del departamento de salud, por lo que se cuenta con un uniforme de trabajo diferente para cada uno de los tres módulos y cada una de las tres partes de la granja cuenta con un laboratorio propio donde realizar los análisis.

Además de estas barreras físicas (zonación y filtración), para la prevención de enfermedades se recurre a barreras químicas para la desinfección de tanques, suelo y camiones de transporte y se lleva a cabo un protocolo de vacunación y de tratamientos para evitar la enfermedad clínica causada por patógenos y con ello las consecuentes pérdidas económicas.

1.3. BIOLOGÍA DE LAS ESPECIES CULTIVADAS

1.3.1. RODABALLO (*Scophthalmus maximus*)

Morfología

Se trata de un pez plano de cuerpo circular y asimétrico (ojos sobre el costado izquierdo). Piel sin escamas, pero provista de protuberancias óseas (tubérculos óseos o espículas) repartidas irregularmente. La boca es grande y con ojos pequeños. La aleta dorsal y anal se extienden ampliamente a lo largo de los flancos dorsal y ventral. Aletas pectorales cortas con borde posterior redondeado; aletas pélvicas pequeñas situadas delante de la aleta anal. La línea lateral es curvada en su parte anterior (Rodríguez Villanueva, 2011). La mandíbula inferior y la abertura bucal ocupan una posición oblicua, de manera que su extremo anterior está adelantado respecto a la mandíbula superior. La rama inferior del primer arco branquial presenta de 10 a 12 branquispinas (Arranz, 2008).

Posee una coloración mimética variable con un lado ciego (derecho) blanquecino y el lado izquierdo de coloración variable según el fondo donde viven. Su esperanza de vida es de hasta 15 años y puede alcanzar 1 metro de longitud y 12 kg, siendo las hembras mayores que los machos (Rodríguez Villanueva, 2011).

Distribución y ecología

El rodaballo (*Scophthalmus maximus*, Linneo, 1758), es un pez teleósteo miembro del orden Pleuronectiformes y de la familia *Scophthalmidae*, una amplia familia distribuída en el noreste Atlántico, incluido el Mar Báltico, costas de Islandia y Escandinavia, Mar Mediterráneo y el Mar Negro (Fig. 4; Eryilmaz & Dalyan, 2015). Es una especie bentónica que se encuentra en fondos fangosos y arenosos, aunque también habita fondos rocosos, generalmente aguas poco profundas hasta los 100-125 m, permaneciendo en aguas someras en primavera y verano y descendiendo en profundidad en invierno. Su dieta se basa en pequeños crustáceos y bivalvos durante la fase juvenil, pasando a alimentarse exclusivamente de peces a partir de los 10-15 cm de longitud (Arranz, 2008). Se mueve poco durante el día y captura sus presas durante la noche.

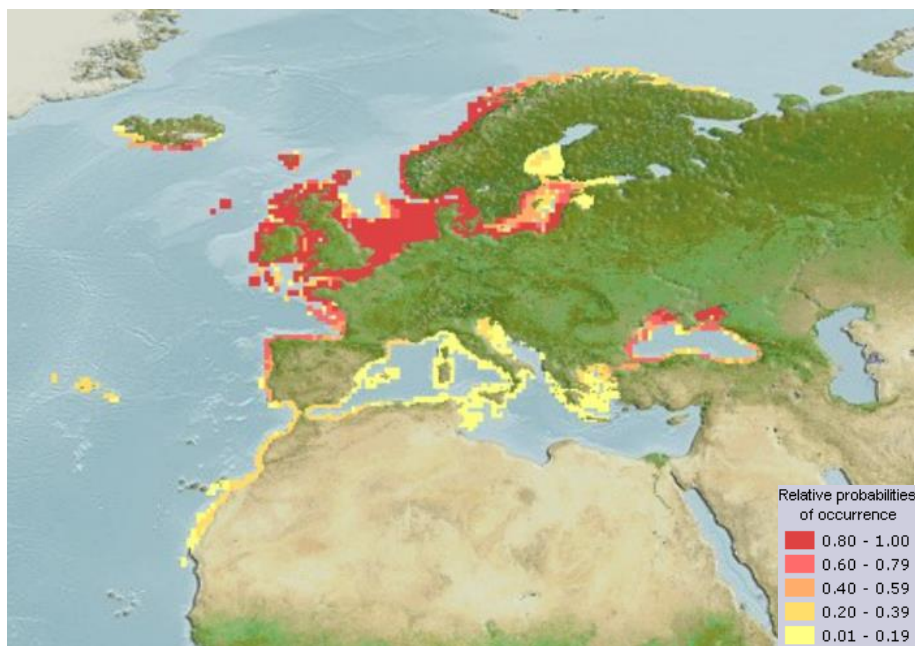


Fig. 4: distribución geográfica del rodaballo (*Scophthalmus maximus*; tomada de FishBase, 1999a)

Reproducción

Es una especie dioica. La época de puesta natural en el Mediterráneo abarca desde febrero a abril y en el Atlántico desde mayo a julio, realizando puestas secuenciales cada 2-4 días. Los huevos son planctónicos, miden un milímetro de diámetro y contienen una

sola gota de grasa. Al eclosionar la larva es simétrica, pero finaliza la metamorfosis en 40-50 días y con 25 mm y el ojo derecho se ha desplazado hacia el costado izquierdo, perdiéndose la simetría bilateral inicial y desciende al sustrato para vivir sobre él casi de forma sedentaria (Rodríguez Villanueva, 2011).

1.3.2. LENGUADO (*Solea senegalensis*)

Morfología

El lenguado senegalés (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) es un pez plano marino de la clase *Actinopterygii*, del orden Pleuronectiformes y de la familia *Soleidae*. Puede llegar a medir 60 cm en el Atlántico y 45 cm en el Mediterráneo y un peso de 3 kg, siendo las hembras mayores que los machos. Tiene un cuerpo plano y oval, con los dos ojos en el lado derecho, el hocico redondeado y la boca pequeña de forma semicircular que alcanza el borde inferior del ojo derecho. Su tonalidad varía de marrón oscuro a más claro, pudiendo presentar manchas de diferentes tonalidades por todo el cuerpo. Su cara ciega es blanquecina. La aleta dorsal se inicia por delante de los ojos y junto con la anal se extienden casi por toda la periferia del cuerpo, dejando una separación entre estas y la aleta caudal. La aleta pectoral del lado ocular presenta una membrana interradyal negra, lo que permite distinguir esta especie del lenguado común (*Solea solea*, Linnaeus 1758), con un punto negro en la zona posterior de la aleta (Rasines, 2013; Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014).

Distribución y ecología

Se distribuye a lo largo de la costa este del Océano Atlántico, desde Senegal hasta La Rochelle (Francia) y en el Mar Mediterráneo a lo largo de las costas de España, costas del norte de Túnez y Golfo de León (Fig. 5). Su modo de vida es demersal, cuyo hábitat más frecuente son los fondos arenosos o fangosos en aguas costeras entre los 12 y los 65 m de profundidad, pudiendo llegar a los 100 metros, aunque también se adentra en estuarios y lagunas salobres. Durante el día permanece semienterrado y está más activo durante la noche. De alimentación carnívora, su dieta incluye poliquetos, crustáceos de pequeño tamaño y moluscos bivalvos (Carazo Ortega, 2013; Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014).

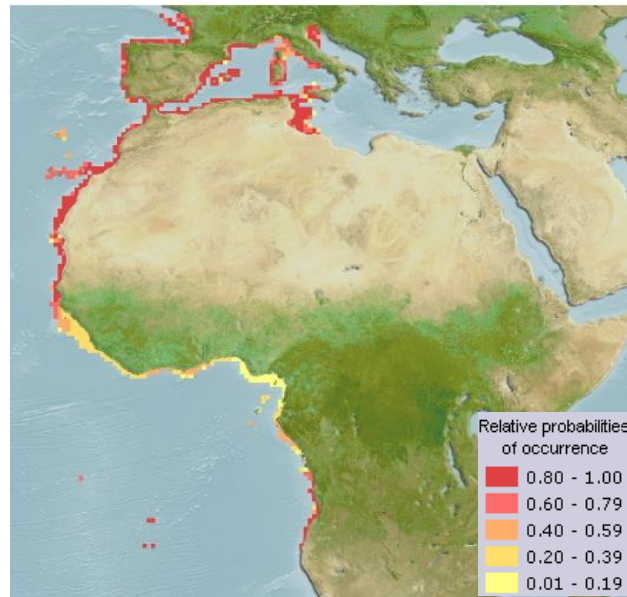


Fig. 5: distribución geográfica de *Solea senegalensis* (tomado de FishBase, 1999b)

Reproducción

Es un pez dioico sin caracteres sexuales externos diferenciales, aunque en la época de reproducción la hembra muestra un aumento considerable de los ovarios. Los machos producen espermatozoides durante todo el año, con una mayor cantidad en la primavera que disminuye durante el verano. Madura sexualmente al tercer año de vida con unos 25-30 cm. La reproducción en el medio natural se traduce en dos épocas de puesta: desde marzo hasta junio la más importante y de septiembre/octubre hasta noviembre otra segunda puesta de menor importancia. La reproducción tiene lugar a temperaturas entre 13 y 23°C, con altas fecundidades entre 15 y 21°C. La incubación varía con la temperatura, pero suele ser de una semana en el medio natural. Los huevos pelágicos miden aproximadamente un milímetro y contienen numerosos aglomerados de glóbulos lipídicos formando una espiral. Las larvas son pelágicas hasta la metamorfosis (entre 10 y 12 días desde la eclosión), en la cual se produce la migración del ojo izquierdo hacia el costado derecho, con la modificación del cráneo y algunas conexiones nerviosas, pasando a ser asimétrico y bentónico. Este fenómeno es común en todos los peces planos, pero se inicia a edades más tempranas en el caso de los soleidos (Carazo Ortega, 2013; Gozalbo & Josep, 2007; Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014)

1.4. ANTECEDENTES Y METODOLOGÍA DE CULTIVO DEL RODABALLO Y LENGUADO

En los años 1955 a 1960, Ito (1955, 1957, 1960) descubre que el rotífero *Brachionus plicatilis* es un excelente alimento para las larvas de peces marinos, además de su facilidad de cultivo, por lo que se podría considerar este hecho como el comienzo de la acuicultura marina moderna, añadiendo la utilización de los nauplii del crustáceo branquiópodo eurihalino *Artemia sp.*, que constituye también un alimento apropiado para las larvas de peces marinos. Esto supone un importante desarrollo de la maricultura (Fernández-Pato, 1998).

Atendiendo a los peces planos de la Familia *Scophthalmidae*, se puede decir que han recibido gran atención como especies cultivables debido al valor comercial que alcanzan entre las demás especies marinas, lo que ha llevado a desarrollar técnicas de producción intensiva y la puesta en marcha de ciclos cerrados de producción (Peleteiro-Alonso, 2005).

Rodaballo (*Scophthalmus maximus*)

El rodaballo posee unas características muy favorables para el cultivo. El hecho de que no posea escamas en la piel, lo sitúa como una de las especies que sufren menos estrés en cuanto a manipulación se refiere, además de la facilidad del mercado (Peleteiro-Alonso, 2005). A continuación, se describe la metodología de cultivo descrita por Rodríguez Villanueva (2011).

La reproducción se realiza en criaderos (*hatcheries*) en condiciones muy controladas, ya que las primeras experiencias se realizaron investigando con stocks mantenidos en condiciones naturales de fotoperíodo y temperatura, sin inducción a la puesta, pero presentaron algún problema como la ausencia de fecundación o la mala evolución de los embriones por lo que, en la actualidad, en todos los criaderos las puestas se obtienen por masaje abdominal. Se aumentan fotoperíodo y temperatura progresivamente para inducir la gametogénesis, que dura unos tres meses. En cautividad la puesta ronda los 200.000 huevos por kg de hembra, dura de uno a tres meses y gracias a la manipulación del fotoperíodo y termoperíodo se consigue tener puestas durante todo el año. El fotoperíodo se aumenta gradualmente o de manera brusca de 8h a 16h y una vez realizada la puesta se vuelve a bajar al periodo de descanso de 8h de luz y 16h de oscuridad. En cuanto al termoperíodo, la mayoría de los criaderos mantienen los stocks de reproductores a una

temperatura constante de 13°C ya que la óptima está entre 13 y 14°C. A partir de los dos años, machos y hembras alcanzan la madurez sexual, siendo a los 5-6 años la edad óptima y a partir de entonces los gametos comienzan a disminuir su calidad y cantidad.

La puesta se lleva a cabo por masaje abdominal y antes de realizar la fecundación se valora la calidad de los huevos: esfericidad, transparencia, diámetro (0,9-1mm) y que contengan una única gota de grasa. El espermatozoide se obtiene del mismo modo y se valora la movilidad y densidad de los espermatozoides, que suele ser del orden de $1-10 \times 10^9$ espermatozoides/ml. Tras la fecundación en agua salada se mezclan y homogenizan los gametos, que transcurridos quince o veinte minutos se separan los viables de los no viables por diferencia de densidad ya que los fecundados flotan y los no fecundados precipitan.

La incubación se realiza en tanques cilindro cónicos de poliéster a una temperatura de 13-14°C, una densidad de 5.000 huevos por litro como máximo y una tasa de eclosión superior al 70%. El proceso dura unos 60-70 grados día, es decir, 5 días a 14°C y es muy importante el seguimiento a la lupa de los embriones viendo su desarrollo, así como ir descartando los no viables.

Las larvas miden unos 3 mm y pesan 0,1-0,2 mg al eclosionar. Son poco activas, ciegas, simétricas y tienen el ano y boca cerrados. La alimentación exógena comienza al tercer día, abriéndose la boca y ano y comenzando a mostrarse más activa. En el día 15 mide alrededor de 7 mm y comienza la metamorfosis, empieza a adquirir forma plana y la migración del ojo derecho al lado izquierdo que finaliza el día 30 cuando comienza a hacerse bentónica y reabsorbiendo totalmente la vejiga natatoria. La metamorfosis finaliza entre el día 40-50.

El cultivo larvario se puede realizar en cultivo semi intensivo o intensivo. En el cultivo semi-intensivo, con densidades bajas de 2-3 larvas/litro, se realiza en tanques circulares de hormigón de 50m³ donde previamente se añaden las microalgas (*Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*) y rotífero (*Brachionus plicatilis*), controlando los parámetros físicoquímicos, densidad de microalgas y de alimento y se comienza a suministrar artemia a los 15 días hasta el destete. Por otro lado, el cultivo intensivo (el que se lleva a cabo en esta granja), con densidades iniciales de 15-20 larvas/litro, se realiza en tanques cilindro cónicos de fibra de vidrio de entre 5-20 m³. El cultivo se realiza en circuito abierto con agua filtrada a 1 micra y esterilizada. En cuanto a la alimentación, los cambios son progresivos,

el destete comienza sobre el día 15 y se mantiene la alimentación con pienso junto con la *Artemia* hasta el día 30-35, momento en el que se alimentan de pienso exclusivamente.

Al finalizar el destete, se llevan a la *nursery* con un peso medio de 0,1 a 0,2 gramos, hasta que alcanzan 2-10 gramos a los 40-60 días, momento en el que son trasladados al engorde. El agua es filtrada y esterilizada con lámparas UV. Se alimentan con pienso, corrigiendo las cantidades en función de su apetito y también de la temperatura. Es muy importante clasificarlos por tamaños para evitar la dispersión y canibalismo, aprovechando esta selección para eliminar los peces con problemas de pigmentación, ausencia de opérculo o migración incompleta del ojo derecho. Al final de esta fase, antes de ser enviados al preengorde son vacunados mediante inmersión (debido a su pequeño tamaño) en función de la principal enfermedad de la granja de destino.

El engorde se divide en dos fases: comienza con el preengorde desde que llegan de la *nursery* con 2-10 gramos hasta que alcanzan 60-100 gramos y el engorde que comprende desde este peso hasta que alcanzan la talla comercial, con un peso medio de 2 kg. Esta fase del cultivo se lleva a cabo en tierra, tanto al aire libre como dentro de naves en tanques de hormigón con circuito abierto. El preengorde se lleva a cabo en tanques circulares de hormigón recubiertos de polietileno, con una densidad inicial de cultivo de 2 kg/m² que alcanza los 10 kg/m² al final del proceso, que dura unos 4-6 meses. En el preengorde los peces se clasifican mediante clasificadoras de rodillos, una o varias veces, para conseguir lotes homogéneos y eliminar individuos de crecimiento lento (los denominados colistas) o alguno que pudiese tener malformaciones y no se hubiese descartado en la clasificación de la *nursery*. Al final de este proceso, antes de ser enviados al engorde se aplican dos dosis de vacuna por inyección intraperitoneal, contra la principal enfermedad que puede afectar a la granja. En el engorde siguen creciendo hasta la talla comercial, en tanques cuadrados con esquinas redondeadas y una densidad inicial de cultivo de 10-15 kg/m² llegando en la fase final del cultivo a 40-50 kg/m², momento en el que se realiza el despesque manual y sacrificio de los peces mediante shock térmico en cubas con hielo. El tiempo medio de duración del cultivo desde la entrada de juveniles hasta la cosecha es de 2 años. Durante el proceso del engorde, al igual que en la *nursery* y preengorde, se llevan a cabo muestreos mensuales para controlar la biomasa y diversos índices de crecimiento, a su vez que controles sanitarios para minimizar la aparición y desarrollo de patologías, manteniendo una baja mortalidad.

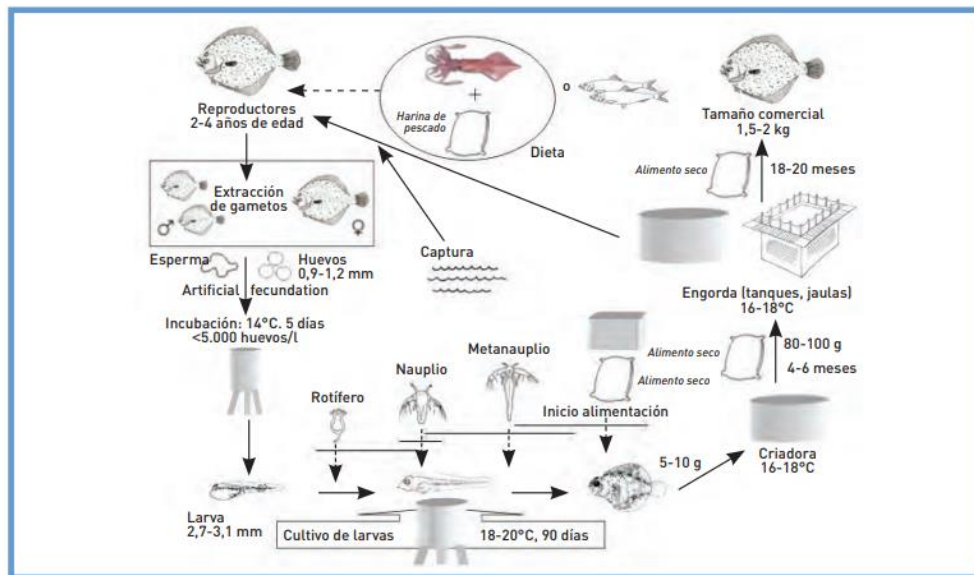


Fig. 6: esquema del ciclo de producción del rodaballo (Rodríguez y Fernández en FAO, 2009)

Lenguado (*Solea senegalensis*)

Los primeros estudios relacionados con el cultivo de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) fueron realizados desde principio de los 80 sobre ejemplares salvajes en Cádiz por Rodríguez (1984) y en los estuarios portugueses por Dinis (1986). No hubo una continuación con estos trabajos en los años posteriores debido a la prioridad en el desarrollo del cultivo de otras especies como la dorada, lubina y rodaballo tanto en el sector productivo como investigador, además de los resultados adversos obtenidos con el lenguado común (*Solea solea*), especie que históricamente fue la primera en atraer la atención acuícola hacia el lenguado (Canavate, 2013; Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014).

En los años 90 aumenta en gran medida la producción de especies de peces marinos, de lubina y dorada fundamentalmente, lo que llega a ocasionar una saturación del mercado y descenso en los precios. En esta situación comienza a haber interés por otras especies entre las que el lenguado senegalés se consideró una especie adecuada para cultivar en el área sur atlántica peninsular, donde se había cultivado tradicionalmente de manera extensiva. Una vez fueron estabulados los reproductores salvajes en diversas instalaciones, no se obtuvieron puestas en los primeros años. En el año 1991 hubo un punto de inflexión en el cultivo de esta especie, que fue la obtención de puestas naturales y de forma continuada en las instalaciones del IFAPA en el Toruño (Cádiz), lo que permitió avanzar en el desarrollo del cultivo larvario, distribuyendo huevos y larvas a diferentes empresas y centros de investigación. A principios del año 2002 se aprobó del Plan Nacional para el cultivo del

lenguado por la Junta Nacional de Cultivos Marinos (JACUMAR), en el que participaron centros de investigación de Cantabria, Cataluña, Galicia y Murcia, además de los de Andalucía, lo que permitió desarrollar técnicas para obtener puestas con regularidad y de forma prolongada, producir alevines y conocer su capacidad de crecimiento bajo diferentes condiciones. En Europa, son tres las empresas que están realizando el cultivo de lenguado: Stolt Sea Farm, Cupimar y Sea 8, y las tres utilizan sistemas de recirculación en acuicultura para su cultivo y décadas de I+D (Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014). El sistema RAS es un sistema intensivo en el cual el productor controla todas las variables. Se utiliza muy poco consumo de agua (sobre un 10-15% de renovación) y está demostrado que la tecnología utilizada es una alternativa viable para el ahorro de agua en la producción de pescado de calidad (Valenzuela et al., 2018).

En 2019 se produjeron 818 toneladas de lenguado de acuicultura en España, un 5,7 % más que en 2018. Esta producción se localiza en Galicia y Andalucía (APROMAR, 2020) y se espera que siga aumentando su producción en los próximos años ya que existen planes de expansión para esta especie tan demandada en el mercado. A continuación, se detalla la metodología de producción del lenguado senegalés descrita por Rodríguez Villanueva y Peleteiro-Alonso (2014).

El cultivo del lenguado (Fig. 7) se realiza en instalaciones en tierra con sistemas de recirculación debido a la importancia de mantener una temperatura estable entre los 18-22°C. El tiempo medio de cosecha es de 18 meses. Tiene dos épocas de reproducción, la primera y más importante en primavera, de febrero a junio y la segunda de septiembre a noviembre, existiendo continuidad entre ambas en algunos casos. Cada hembra pone unos 28.000 ovocitos. Tras un tiempo de cuarentena, se estabulan en tanques con un ejemplar por metro cuadrado, siendo conveniente una relación macho/hembra de 2:1, marcando los ejemplares con un microchip para diferenciarlos entre sí a la vez que se diferencian ambos sexos. Otra manera de diferenciar a las hembras es por la dilatación del ovario en época de puesta, o con un sistema de ecografía para identificar más fácilmente a los dos sexos. Para la inducción a la puesta, primero se induce la maduración gonadal estimulándola con cambios en el termoperiodo, subiendo y bajando la temperatura dos grados cada 24 horas y manteniendo el fotoperiodo natural amortiguado, lo que da lugar a puestas naturales a los dos meses del inicio de la inducción.

Cabe mencionar que uno de los aspectos de mayor dificultad en la reproducción del lenguado es conseguir un desove espontáneo a partir de individuos F1 madurados en cautividad. Sin conocer las causas exactas, existen indicios de la ausencia de cortejo sexual, así como el factor inherente de los machos de producir poco volumen de esperma, por lo que una solución pendiente de optimizarse es la reproducción artificial por masaje abdominal (Canavate, 2013). Se ha demostrado que la presencia de lenguados salvajes que se reproducen, incrementa la participación en el cortejo de los lenguados de la primera generación, sugiriendo que existe un proceso de aprendizaje de los comportamientos reproductivos (Fernández, 2018).

Los ovocitos miden 1000 micras aproximadamente, son esféricos y tienen una gota de grasa dispersa en su superficie, lo que dificulta en ocasiones diferenciar los que están fecundados. La fecundación se produce durante la noche generalmente tras el cortejo de los machos. Los ovocitos fecundados flotan y son recogidos mediante un colector en los rebosaderos de los tanques para su valoración (se calcula el porcentaje de fecundación, volumen de huevo flotante y simetría de las primeras divisiones) y se procede a la incubación de los ovocitos fecundados, a temperatura constante de 14°C durante 72 horas o a 18°C durante 48 horas, observando la evolución del embrión diariamente en la lupa.

Al eclosionar las larvas se valora su calidad: forma, tamaño, malformaciones y disposición de los órganos. También se estima el número de larvas para calcular el número de tanques necesario. El cultivo larvario del lenguado senegalés es de los más largos conocidos en la acuicultura marina moderna (hasta los 90 días) y se realiza normalmente en sistema intensivo y circuito abierto en tanques cilindro cóncavos de 0.5-20 m³, con fotoperiodo de 24 horas hasta que inician la fase bentónica a los 20 días de vida, a partir de entonces se baja paulatinamente hasta las 16 horas de luz y 8 de oscuridad, a una temperatura óptima de 18-20°C. La alimentación en los primeros días es endógena, y una vez agotadas las reservas vitelinas comienza la alimentación exógena con rotífero (*Brachionus plicatilis*) enriquecido con *Isochrysis galbana* o productos comerciales, y a partir del día 5-6 con nauplios de Artemia. A partir del día 7-9 se añaden metanauplios de artemia enriquecidos con *Isochrysis galbana* o productos comerciales y se mantiene hasta el destete a los 40-60 días, o también se puede coalimentar con alimento inerte (pienso) de manera temprana mejorando la calidad de los alevines. Igual que en el rodaballo el cambio más importante que sufren las larvas es la metamorfosis desde los 10-12 días hasta los 20, donde pasan de vida pelágica a bentónica.

Se trasladan a la *nursery* una vez realizado el destete con un peso de 1.5-2 g donde permanecen hasta los 5-10 g (60 días de cultivo). Aquí se alimentan a saciedad con pienso comercial de manera automática. Durante esta etapa son necesarias varias clasificaciones debido a la dispersión de tamaños, mediante máquinas clasificadoras de rodillos, donde también se eliminan a los colistas, peces con algún defecto morfológico o en la pigmentación. Antes de ser enviados al engorde se vacunan por inmersión contra las principales enfermedades bacterianas que afectan al cultivo, principalmente tenacibaculosis y vibriosis.

El engorde se lleva a cabo en sistemas de recirculación como se menciona anteriormente, para mantener una temperatura estable entre 19 y 22°C y comprende dos fases: el preengorde desde los 5-10 g hasta los 70-100 g, con una duración de 5-6 meses y el engorde desde los 70-100 g hasta la talla comercial de 300-500 g y una duración de 9-10 meses. La densidad de cultivo del preengorde va desde los 2 kg/m² hasta los 10kg/m² para llegar a la densidad máxima de 22-25 kg/m² en el engorde. Durante estas dos fases es necesario realizar clasificaciones para evitar la dispersión de tallas mediante una clasificadora de rodillos automática (Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014).

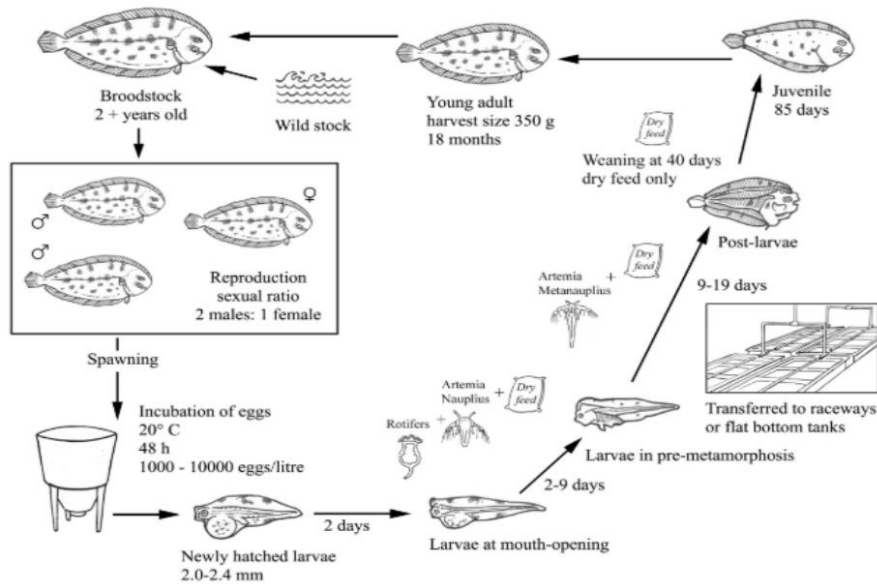


Fig. 7: ciclo de producción de *Solea senegalensis* (tomada de Castellar Carranza, 2020)

2. OBJETIVOS DE LAS PRÁCTICAS

Los objetivos de estas prácticas en el departamento de salud son el aprendizaje de las tareas rutinarias que se llevan a cabo de manera planificada, cumpliendo con los requisitos zosanitarios de los peces, productos y aparatos empleados en la granja, el control y la prevención de determinadas enfermedades y velar por el cumplimiento de las medidas de bioseguridad, tanto en el cultivo de lenguado como en el de rodaballo. Se trabaja desde la prevención, comunicando cualquier incidencia a los responsables de granja y colaborando con el personal de engorde tanto para concluir las causas de la mortalidad, como para proponer medidas paliativas o preventivas como tratamientos, vacunas o ventas.

3. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL DEPARTAMENTO DE SALUD

El personal de salud da cobertura a las dos subexplotaciones (lenguado y rodaballo) de la granja. Dicho departamento está compuesto por tres personas que van rotando entre los diferentes módulos y las funciones que se desempeñan pasan por la revisión general del estado de salud de los tanques, llevando un seguimiento diario, toma de muestras de agua, hielo y peces para cumplir con los estándares de calidad y llevar la trazabilidad en la granja, análisis de la mortalidad realizando necropsias, parasitologías y bacteriologías, toma de muestras de histologías y virologías, conservación y cuidado de vacunas y aparatos empleados en la granja como sondas fijas y móviles y equipos de laboratorio. Para cada lote de peces que se cultiva en la granja se llevan a cabo una serie de valoraciones programadas en el calendario desde el destete hasta el final del engorde, pudiendo medir mediante parámetros el estado de salud de estos y asegurar el estado de bienestar de los animales. A continuación, se explican con detalle las tareas que se llevaron a cabo en el periodo de prácticas rotando por las diferentes partes de la granja que fueron *hatchery* (criadero de lenguado y rodaballo), engorde de rodaballo (incluyendo la *nursery*) y engorde de lenguado en RAS. Cabe mencionar que al tratarse de una empresa privada se firmó un acuerdo de confidencialidad, por lo que no es posible explicar los protocolos seguidos para los tratamientos ni hablar de las enfermedades principales que afectan a la granja.

3.1. ACTIVIDADES EN LA *HATCHERY*, ENGORDE DE RODABALLO Y RAS DE LENGUADO

3.1.1. REVISIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE LA PLANTA

Se trata de una de las tareas principales del departamento llevada a cabo en los tres módulos de la granja y el punto de partida que permite tomar decisiones para asegurar el bienestar de los animales, como sugerir desdobles de peces en los tanques para reducir la densidad o proponer tratamientos en caso de goteo de enfermedad o mortalidad. Se lleva a cabo tanto en el criadero de rodaballo como el de lenguado y permite controlar las patologías que afectan a estos cultivos.

Disponiendo de tiempo, es un trabajo diario (o al menos varias veces a la semana) que consiste en observar pausadamente cada tanque y empezando por los peces más pequeños, empleando una linterna para observar mejor y detectar los que están muertos o enfermos, anotando en estos casos lote y número de tanque y procediendo a retirarlos. Si hay algún tanque enfermo o con goteo de mortalidad se le pondrá especial atención llevando una inspección continua y tomando muestras para analizar la evolución. Los operarios de la planta encargados de la limpieza diaria de los tanques retiran también la mortalidad y la depositan en un recipiente en cada tanque, para posteriormente el personal de salud retirar estos peces y llevarlos al laboratorio para realizar los análisis oportunos. Se valoran las muestras que estén en condiciones de ser analizadas (para realizar la necropsia en ocasiones se descartan aquellos animales que lleven un día o más muertos, con un estado de autólisis avanzado). Las incidencias siempre se comunican con el personal de la planta, quienes aportan información relevante que ayuda a tomar las medidas necesarias y siempre se deja constancia de los peces retirados por el personal de salud para llevar el recuento diario de bajas.

3.1.2. ANÁLISIS REALIZADOS

Una vez llevados los peces al laboratorio, nos encontramos con la siguiente tarea diaria. En una hoja de registro se anota la fecha, número de tanque, lote y síntomas externos de cada pez, para posteriormente trasladar esta información al ordenador a una base de datos propia de la empresa, que permite llevar un registro diario de todos los acontecimientos de

la granja, poder elaborar los informes de salud anuales e intentar mejorar los índices cada año.

Para poder realizar el diagnóstico presuntivo de cada animal, se procede a realizar la necropsia (Fig. 8) de la siguiente manera: si el animal sigue vivo, lo primero es su sacrificio. Este se realiza con una sección en la cabeza a la altura del encéfalo, en este caso al tratarse de animales pequeños se emplea un bisturí. Se hace un examen visual de la piel, color, branquias y si presenta alguna alteración como úlceras, exoftalmia o lesión. Con la ayuda de pinzas de precisión y bisturí, se toman muestras de encéfalo, piel, branquia, músculo y raspado de piel y branquia, antes de proceder a abrir la cavidad abdominal para tomar muestras de intestino (intestino y ciego pilórico en rodaballo) y sangre (de la cavidad pericárdica), tras hacer un examen visual del estado de los órganos. Si el pez presenta ascitis también se toma una muestra del líquido ascítico, y en caso de úlceras la muestra de piel se toma también sobre la zona afectada. Una vez tomadas las muestras se observan al microscopio óptico pasando por los diferentes aumentos, para ir anotando las alteraciones y posibles patógenos observados en cada una.



Fig 8: ambiente de trabajo en el laboratorio realizando una necropsia en alevín de rodaballo

Las bacteriologías o siembras bacterianas se realizan cuando se observen úlceras o heridas que sugieran algún tipo de infección y no haya ningún diagnóstico previo de enfermedad en el tanque, o también para comprobar si sigue habiendo prevalencia de patógenos identificados con anterioridad. Para ello, se desinfecta bien la zona de trabajo, manos y al lado de la llama, con el asa de siembra se toman muestras de piel (de la zona afectada), bazo y riñón, en ambas especies. Los medios utilizados para rodaballo son TSA-1 (medio general), FMM (medio selectivo) para detectar bacterias filamentosas (*Tenacibaculum maritimum*) y Agar Sangre como medio diferencial para *Aeromonas* y

TSA-1, FMMC (con colistina) y Agar Sangre para lenguado. La colistina es un polipéptido cíclico perteneciente al grupo de las polimixinas, que por sus propiedades tensoactivas tiene la capacidad de alterar la permeabilidad de la pared de las bacterias gran negativas sensibles, que presentan una capa externa conformada por lipopolisacáridos (Medina et al., 2017). En este caso interesa inhibir el crecimiento de *Vibrio*, ya que suele ser una bacteria abundante en los cultivos de lenguado y puede enmascarar el crecimiento de *T. maritimum*. Las placas de cultivo se colocan en la estufa a la espera de un crecimiento bacteriano y se retiran a las 72 horas para ser enviadas al Departamento de I+D, encargados de hacer la identificación. Una vez identificado el agente principal de la infección, se deja constancia en la base de datos y se propone llevar a cabo el tratamiento correspondiente.

En caso de no llegar a una identificación concisa de la causa de enfermedad o mortalidad, o para confirmar un diagnóstico, se realizan histologías y virologías que posteriormente son enviadas a analizar a laboratorios externos a la empresa. Para realizar la virología, se toman muestras de los órganos diana de los virus que pueden afectar al cultivo: encéfalo, corazón, bazo y riñón. Se introducen en un tubo y se congelan para su posterior envío. Para la histología (Fig. 9) se toman muestras de piel, músculo, branquia, encéfalo, riñón, intestino, bazo, hígado y corazón y se introducen en un bote con formol tamponado.



Fig. 9: ejemplo de las muestras tomadas para histología en lenguado y rodaballo

También se realizan parasitologías diariamente en el engorde de rodaballo, empezando por los tanques con peces más grandes. Se realiza una lista de tanques ordenados temporalmente por generaciones (en la *hatchery* se trabaja con lotes y en el engorde se mezclan los lotes para homogeneizar tamaños y formar generaciones). Cuando se han analizado todos los peces de una generación se pasa a la siguiente y al acabar se vuelve a empezar por la primera generación existente en el engorde. La manera de realizarlas es seleccionar tres peces por cada tanque con la ayuda de una sacadera (Fig 12a) y una linterna,

escogiendo si es posible los que presenten algún comportamiento, color o síntoma extraño, o en caso contrario se eligen al azar. Entre cada tanque es necesario desinfectar la sacadera y la superficie del tanque donde se apoya el pez. Por cada pez, se toma una muestra de piel en la cabeza y bajo la aleta pectoral con una espátula de acero y otra de las branquias con la ayuda de una espátula de plástico (Fig 12b). Luego, se llevan las muestras al laboratorio para identificar la presencia de parásitos en el microscopio óptico y se anotan los resultados en una ficha del mismo modo que los resultados de las necropsias, para pasarlos a la base de datos y proponer tratamiento en los tanques afectados. Tras aplicar cada tratamiento, a los tres días se toman tres muestras nuevamente para comprobar si resultó ser efectivo y en caso contrario se repite el tratamiento.



Fig. 12: utensilios para realizar las parasitologías (12a) y bandeja para las muestras (12b)

3.1.3. VALORACIONES RUTINARIAS

De manera rutinaria para comprobar el estado de salud y calidad de cada lote se llevan a cabo unos chequeos antes de ser destinados para el engorde en la granja de destino, tanto en rodaballo como en lenguado y así poder realizar el certificado sanitario.

En la *hatchery* de rodaballo, a los 50-60 días de vida y tras una semana desde la primera vacunación por inmersión, se realiza una virología con la mortalidad de ese día. A los 85 días y 14 días antes de que los peces se destinen a otra granja, se realiza una parasitología de piel y branquias (además de la necropsia completa), una bacteriología de riñón de cinco peces en FMM y TSA-1 y una histología. Una vez los peces han pasado al preengorde (*nursery*), cuando tienen 200 días se realiza una histología y una virología para comprobar que están en buenas condiciones para el engorde.

En el caso del lenguado, a los 40 días se hace una bacteriología de riñón y aleta de cinco peces en FMMC y TSA-1. Se mira a la lupa el estado de la aleta caudal de veinte peces por tanque indicando con valores comprendidos entre 0 (aleta completa) hasta 4 (pérdida total de los radios de la aleta). Se valora también al microscopio la cantidad de bacterias presentes en la cola (1: poca; 2: moderada; 3: elevada) en una muestra de cinco peces, se identifica la presencia de *Leucothrix* (un género de bacterias filamentosas asociado al calcio de la cola) en veinte peces y por último se preparan estos peces para una virología.

A los 130 días, 14 días antes de salir a la granja de destino para el engorde y poder hacer el certificado sanitario, se realiza en cinco peces una necropsia, una parasitología, una bacteriología de riñón y aleta (Fig. 10a), una virología (Fig. 10b) de diez peces muertos preferiblemente con un corte en la cabeza, guardados en seco en un bote estéril y una histología (Fig. 10c) con cinco peces vivos con un corte en el encéfalo y abdomen que se introducen en un bote estéril con formol tamponado. Además, una semana antes de ser enviados se anota el estado de la aleta caudal de cincuenta peces por tanque, su peso medio y el porcentaje de manchas ventrales, tras anestésarlos con triclaína. Una vez en el engorde, a los 200 días del cultivo, igual que en el rodaballo se realiza una histología y una virología rutinaria para enviar a analizar a laboratorios externos



Fig. 10: de izquierda a derecha: bacteriología, muestras para virología y muestras para histología

Por otra parte, cada vez que se vaya a vacunar un tanque se necesita valorar el estado de salud de los peces, ya que la vacunación supone un factor de estrés importante y los peces deben estar sanos, por lo que si se encuentran peces enfermos se debe posponer. En la *hatchery*, el día antes a cada vacunación, se realiza una necropsia en cinco peces de cada tanque que se va a vacunar y si se encuentra una carga bacteriana alta, hongos o algún patógeno se pospone la vacunación para proponer un tratamiento. En el preengorde (*nursery*) se hace un chequeo previo a la vacunación una semana antes, que consiste en una

parasitología y necropsia de tres peces por tanque que tengan cambios de color, colistas, comportamiento extraño o alguna herida.

3.1.4. CONSERVACIÓN DE LAS VACUNAS

Siguiendo un calendario de vacunación, se realizan en la *hatchery* de rodaballo y lenguado por inmersión durante un minuto y por inyección intraperitoneal en el preengorde de rodaballo y lenguado, en dos dosis con un intervalo de 40 días entre ambas. La diferencia es que las vacunas de la *hatchery* no tienen adyuvante oleoso y en el engorde sí, siendo necesario cada semana remover los botes de vacunas en la nevera del engorde para mezclar el adyuvante con el antígeno y que puedan ser usadas por el personal de la planta.

El personal responsable de la vacunación debe calcular el volumen total de dosis que van a necesitar y el personal de salud debe hacer el reparto en botes estériles en el laboratorio. La parte que no vayan a utilizar se debe conservar inyectando formaldehído en la proporción correspondiente al volumen de vacuna, para lo que se utiliza una botella vacía reglada con marcas de volumen como referencia. Se debe desinfectar con alcohol el tapón de la botella antes de proceder a inyectar el formaldehído en ambiente estéril, se sella el tapón con papel Parafilm y se guarda en la nevera para su posterior uso, anotando el tipo de vacuna, lote, caducidad y cantidad.

La vacuna guardada puede ser usada en las próximas 48 horas, a partir de entonces se debe hacer una siembra en Agar Marino con 100 microlitros para comprobar si está contaminada. Si tras 72 horas no hubo ningún crecimiento entonces puede ser usada, de lo contrario debe eliminarse.

3.1.5. COMPROBACIÓN DE SUPERFICIES LIMPIAS

De manera periódica se realizan limpiezas generales en los tanques de la *hatchery*, procediendo a su vaciado y desinfección antes de introducir un nuevo lote, así como del camión que transporta los alevines. Otra de las tareas del departamento es comprobar si las limpiezas resultaron efectivas, con kits de laminocultivos de dos caras que permiten el recuento de bacterias aerobias por una y de hongos y levaduras por la otra. Usando guantes, se procede con cuidado de no contaminar la placa, destapando el bote y colocándola sobre

las superficies secas que presenten algún tipo de mancha. Se deben dejar en reposo en la estufa durante 72 horas, anotando fecha, número de tanque y lugar de recogida de la muestra. Transcurrido el tiempo, se envían a I+D para realizar la identificación y recuento de colonias y si es necesario se tiene que realizar una nueva limpieza.

3.1.6. MANTENIMIENTO DE SONDAS DE OXÍGENO

Las sondas de oxígeno, tanto las manuales como las automáticas, son utilizadas por el personal de la planta para mantener los parámetros de los tanques en intervalos óptimos y también para operaciones como la vacunación por inmersión o para aplicar tratamientos. Cada mes es necesario hacer el mantenimiento de todas las sondas de la granja. En el caso de las sondas manuales (Fig. 11a), se realiza una limpieza de la membrana y una calibración. El extremo de la sonda lleva un electrolito y un sensor que realiza la lectura, protegido por una membrana. Con el tiempo el electrolito forma precipitado y la membrana puede dañarse, disminuyendo la precisión. La limpieza consiste en desmontar este extremo para lavar el sensor con esponja y agua destilada con cuidado y sustituir la membrana, junta tórica y electrolito. Tras su limpieza se deja en reposo durante 2 horas, antes de proceder a calibrar la temperatura empleando un termómetro de precisión como referencia y se comprueba la medición de oxígeno con agua envejecida tomada de un tanque el día anterior. Como referencia para comprobar si la concentración de oxígeno es correcta, se utiliza el método Winkler (Fig. 11b) que consiste en una medición química aplicando una serie de reactivos que permite obtener la concentración en mg/L de la muestra. Se acepta un error de $\pm 0,5$ mg/L, a partir del cual debe ser calibrado nuevamente o enviado al fabricante para su reparación. En el caso de las sondas automáticas fijas, se limpia el sensor con papel y se comprueban los valores de oxígeno utilizando las sondas manuales como referencia, en aperturas de las tuberías próximas a estas sondas y su calibrado se realiza ajustando los valores en el software del aparato. En el RAS hay una sonda manual para cada una de las tres plantas y también sondas automáticas independientes en cada una. Es necesario calibrar cada dos meses estas sondas automáticas, ajustando el oxígeno y el pH en cada uno de los softwares instalados en la sala de máquinas con la ayuda de sondas de oxígeno y de pH manuales correctamente calibradas.

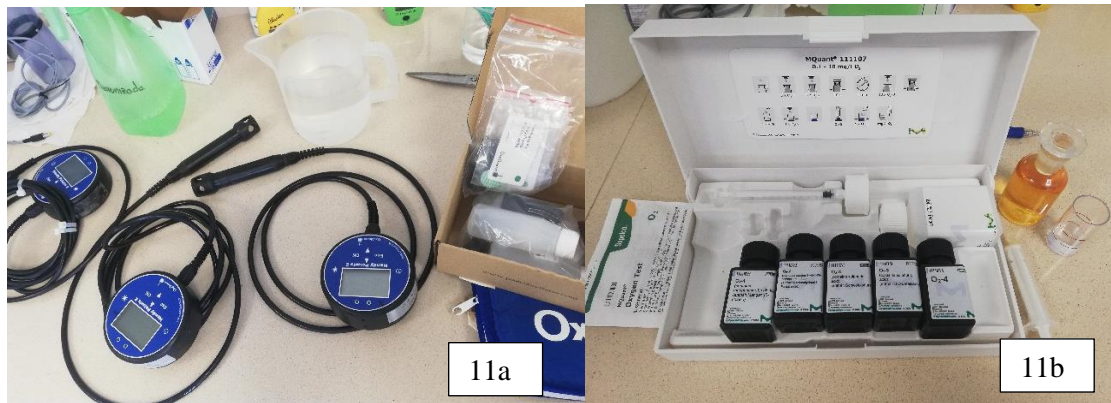


Fig. 11: sondas de oxígeno manuales (11a) y reactivos para el método Winkler (11b)

3.1.7. ANÁLISIS DE AGUA DE LAS LÁMPARAS ULTRAVIOLETAS

Las lámparas ultravioletas del engorde están ubicadas por detrás de la nave en posición vertical, y el agua pasa a través de ellas en canales abiertos. Funciona con una longitud de onda de 254 nm y penetra en la pared celular de los microorganismos inactivándolos, es decir, no pueden reproducirse ni infectar. Por otro lado, la turbidez es un parámetro que influye en la desinfección del agua por medio de UV, disminuyendo su eficacia ya que las partículas que causan dicha turbidez funcionan como escudo para los microorganismos (Castellanos et al., 2015). Esto es especialmente relevante en condiciones de mar de fondo fuerte, que produce mucha turbidez en el agua y permite la entrada de patógenos en la granja.

Una manera de medir la eficacia de las lámparas UV, es tomar cada semana cuatro muestras de agua justo después de los ultravioletas en tres puntos del engorde y en uno de la *nursery*. Es importante la desinfección de manos, emplear guantes y utilizar botes estériles para tomar las muestras. Se llevan al laboratorio para hacer una siembra en TSA-1, tomando 100 microlitros de cada muestra. Tras 72 horas se comprueba si hubo crecimiento y se envían las placas al departamento de I+D para identificar las colonias.

3.1.8. OTROS ANÁLISIS O TAREAS

Cada vez que hay una venta, los peces son depositados en cubas de hielo para sacrificarlos por shock térmico. Es importante llevar un registro del Cloro presente en el agua ya que si pasa de 1 mg/L es perjudicial para la piel del pescado, puede ocasionar

quemaduras y no sería adecuado para la venta. Para ello se toman 5 ml de agua del grifo y se utiliza un reactivo que cambia el color del agua según la concentración de cloro. Se anota el resultado en una hoja de registro, lugar de la toma de la muestra y firma.

Una vez al mes se toman muestras de agua y de hielo para enviar a analizar. Cada dos meses en el foso de bombas, con la ayuda de un cubo y una cuerda se toman dos muestras de agua, una para el departamento de I+D, para medir la turbidez y otra para el departamento de salud para analizar la presencia de patógenos al microscopio.

Por último, cada vez que se realiza un tratamiento en un tanque o cabecera, desde el momento en que se inicia se lleva a cabo una medición cada media hora con una cinta colorimétrica para comprobar si la concentración inicial es la adecuada y también si en las próximas mediciones se va diluyendo, ya que el tratamiento se da durante una hora y luego la concentración debe ir bajando hasta llegar a cero.

4. PATOLOGÍAS EN EL CULTIVO DEL RODABALLO Y LENGUADO

Las enfermedades principales que afectan a la granja contra las que se vacunan los peces y el protocolo de los tratamientos que se aplican, es información confidencial de la empresa que no se puede plasmar en el presente trabajo. Por ello, se van a mencionar algunas de las enfermedades más comunes que afectan al cultivo de rodaballo y de lenguado.

4.1. ENFERMEDADES BACTERIANAS

Tenacibaculosis, Flexibacteriosis o Síndrome Necrótico Ulcerativo: es una enfermedad ulcerativa causada por bacterias filamentosas como *Tenacibaculum maritimum* (antes *Flexibacter maritimus*), *T. solea* y *T. gallaicum*. Se consideraba restringida a Japón, pero a partir de los 90 ha sido detectada en varios países de Europa, siendo considerada de gran importancia económica y limitante de la producción de peces a nivel mundial. Los principales signos son las erosiones en la superficie del cuerpo, particularmente hemorragias en la mandíbula (boca roja), degradación inter-radial de la aleta caudal y úlceras en la piel. Internamente se describen petequias y hemorragia del peritoneo, inflamación y erosión de

la boca. La muestra de piel (Fig 13) se toma en los bordes de las úlceras. Los síntomas externos y el examen microscópico en fresco a partir de lesiones pueden usarse sólo como diagnóstico presuntivo. Para la identificación, métodos moleculares o aislamiento en medios específicos (FMM) para obtención de un cultivo puro seguido de su identificación mediante sistemas API o métodos serológicos (Avendaño-Herrera, 2005). El tratamiento preventivo es la vacunación por inmersión o por inyección intraperitoneal.

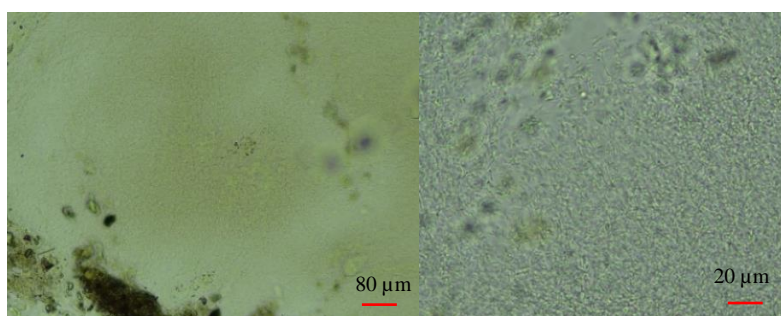


Fig. 13: tapiz de bacterias filamentosas al microscopio con aumento x10 (izq) y x40 (dcha)

Vibriosis: causada por *Listonella anguillarum* (antes *Vibrio anguillarum*), principalmente el serotipo O1, y con menor incidencia por *Vibrio harveyi* y *Vibrio alginolyticus*. Afecta en mayor medida a alevines y juveniles. Las vibriosis son procesos de curso agudo que se presentan como una septicemia hemorrágica. Los síntomas son hemorragias en la base de las aletas dorsal y anal que pueden evolucionar a úlceras. Los peces afectados también suelen presentar exoftalmia (Rodríguez Villanueva, 2011; Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014). Diagnóstico presuntivo mediante observación de los signos clínicos y el examen microscópico en fresco y diagnóstico confirmativo mediante aislamiento en cultivo puro (TSA-1 o Agar Marino) y caracterización con métodos moleculares y serológicos (García, 2013). El tratamiento recomendado es la prevención con vacunación o la antibioterapia con pienso medicado (Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014).

Fotobacteriosis: antes denominada Pasteurelisis o Pseudotuberculosis, es causada por *Photobacterium damsela* subespecie *piscida* (conocida anteriormente como *Pasteurella piscicida*) afecta principalmente al lenguado con temperaturas superiores a 18°C y puede presentar cuadros agudos muy severos con mortalidad muy alta. La sintomatología, externamente puede no presentar lesiones, pero sí una pigmentación oscura y dilatación de la cavidad abdominal, con palidez branquial en algunos casos y pequeñas úlceras. Los peces moribundos tienen natación errática subiendo a la superficie. Internamente se aprecian

granulomas blancos e inflamación en bazo y riñón e hígado pálido (Faílde García, 2013; Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014). El diagnóstico debe ser rápido, tras detectar los primeros síntomas, con la historia clínica y la detección precoz en las improntas de bazo y riñón como diagnóstico preliminar y su confirmación mediante aislamiento bacteriano e identificación con metodologías microbiológicas convencionales, serológicas o moleculares (Zarza et al., 2005).

Forunculosis: causada por *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. Los principales signos externos son la aparición de zonas hemorrágicas en la base de las aletas pectorales y en la boca, lesiones ulcerativas en la superficie dorsal y ventral y en el caso concreto del rodaballo se observan úlceras crateriformes sobre los tubérculos óseos. Para el diagnóstico presuntivo, aislamiento en cultivo puro en Agar Sangre y confirmación mediante técnicas moleculares como PCR o hibridación con sondas específicas (García Carballas, 2018).

Edwardsellosis: causada por *Edwardsiella tarda*. La primera descripción de esta enfermedad fue en el 2010, pero hasta entonces no había causado graves daños en el cultivo del lenguado. Los síntomas son lesiones cutáneas en la superficie dorsal, inflamación alrededor de los ojos y hemorragias ventrales (Rodríguez Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014). En rodaballo es un proceso bacteriano grave que afecta a los tamaños grandes y está asociado a temperaturas altas y condiciones de estrés. Los síntomas son hemorragias en piel y aletas, exoftalmia y dilatación abdominal. Internamente presentan ascitis y hemorragias internas (Rodríguez Villanueva, 2011).

4.2. ENFERMEDADES VÍRICAS

Septicemia Hemorrágica Viral (VHS): afecta a rodaballo y lenguado. Causado por rhabdovirus, que pertenece al género *Novirhabdovirus*, es una enfermedad de declaración obligatoria en la Lista de la OIE. Los síntomas clínicos son inespecíficos, en las primeras fases pueden presentar rápida mortalidad, letargia, oscurecimiento de la piel, exoftalmia, anemia, hemorragias y distensión abdominal. En estado crónico en general no presentan signos externos. Puede ser diagnosticada mediante el aislamiento del virus en cultivo celular y confirmada por inmunofluorescencia, ELISA o PCR (OIE, 2021a).

Infeción por Herpesvirus: causada en rodaballo por *Herpesvirus scophthalmi*. Afecta principalmente a juveniles. Los síntomas son natación errática, letargo, pigmentación

anormal, falta de apetito y asfixia. Se puede detectar por observación al microscopio, debido a la presencia de células gigantes con doble membrana en frotis cutáneos y de branquias o por histología. Las lesiones más prominentes se observan en las branquias, piel, riñón, bazo, hígado y sistemas gastrointestinales. El diagnóstico se realiza por cultivo celular y PCR o ELISA, y se previene con medidas como el sacrificio sanitario, la desinfección y el control de los movimientos de los peces (Hanson et al., 2011; Hellberg et al., 2002).

Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHN): causada por *Novirhabdovirus*, familia *Rhabdoviridae*, es una enfermedad de declaración obligatoria en la Lista de la OIE. El rodaballo presenta signos de susceptibilidad. Los síntomas clínicos son inespecíficos. Con infección aguda pueden presentar letargo intercalado con actividad frenética, natación en espiral, oscurecimiento, exoftalmia, abdomen distendido y hemorragia externa. Diagnóstico por cultivo celular y métodos moleculares (OIE, 2021b)

Necrosis Nerviosa Viral (VNN): virus del género *Betanodavirus*, familia *Nodaviridae*. Transmisión horizontal y vertical. Afecta a rodaballo y lenguado, principalmente a larvas y juveniles. En peces afectados se observa comúnmente natación anormal (en espiral, giros y bucles) y pérdida de apetito, otros signos incluyen inflamación de la vejiga natatoria y anomalías en la pigmentación. El análisis histopatológico muestra necrosis del sistema nervioso central, vacuolización extensa y degradación neural del cerebro y vacuolización de la retina. La observación de los síntomas y la histopatología solo son apropiados para el diagnóstico presuntivo, para confirmar se realiza cultivo celular seguido de identificación inmunológica o molecular. Debido a la alta estabilidad del virus en el medio ambiente no es fácil de controlar la enfermedad por lo que se ha hecho especial énfasis en desarrollar vacuna para prevenirla (Bandín y Souto, 2020).

4.3. ENFERMEDADES PARASITARIAS

Escuticociliatosis: enfermedad sistémica producida por *Philasterides dicentrarchi* (Fig. 14), entre otros, un protozoo ciliado del Orden Scuticociliata. Es una especie de vida libre que vive en los sedimentos alimentándose de bacterias principalmente pero también son parásitos facultativos y, en ocasiones pueden provocar infecciones sistémicas graves. En rodaballo se han descrito mortalidades de hasta un 100% en unidades de alevines y de un 30% en los engordes más afectados. La inmunosupresión parece ser un factor clave en el

desarrollo del proceso y las posibles vías de entrada parecen ser las heridas externas, branquias, narinas, línea lateral y cavidad orobranchial. Una vez dentro provoca de forma rápida una infección sistémica. El diagnóstico definitivo sería mediante histología (Zarza y Aizpurua, 2001).

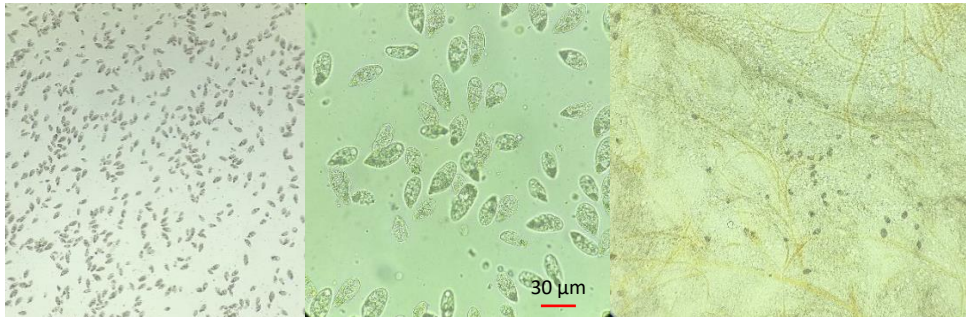


Fig. 14: *Philasterides dicentrarchi* en líquido ascítico (izquierda y centro) y en encéfalo (derecha)

Microsporidiosis: enfermedad sistémica producida por *Tetramica brevifilum* (Fig. 15), que afecta principalmente a rodaballo. Los peces infectados presentan natación errática, hinchazón de diferentes partes del cuerpo, oscurecimiento de la piel con presencia de manchas o nódulos blanquecinos de 1 mm de diámetro y sobreproducción de mucus, musculatura con consistencia gelatinosa. Además de provocar mortalidades significativas durante un periodo de tiempo considerable, provoca que el pez no sea apto para su comercialización. No existe un tratamiento eficaz contra la infección, siendo la mejor opción disminuir la presión de la infección retirando los peces afectados (Zarza y Aizpurua, 2001).

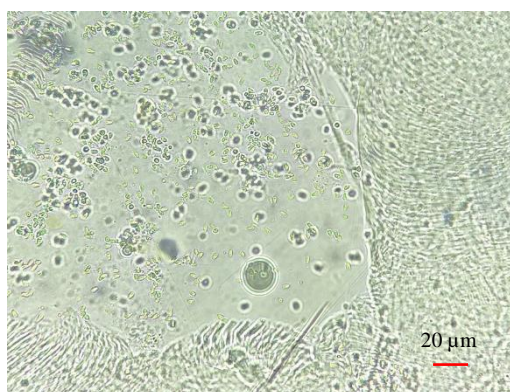


Fig. 15: esporas de *T. brevifilum* en musculatura de rodaballo

Mixosporidiosis o Enteromyxosis: enfermedad sistémica causada por el mixosporidio *Enteromyxum scophalmi*, es la patología más grave que afecta a las granjas de rodaballo (Rodríguez Villanueva, 2011), siendo poco frecuentes en el cultivo del lenguado (Rodríguez

Villanueva & Peleteiro-Alonso, 2014). Provoca infestaciones muy intensas y de elevada prevalencia dentro de la población afectada, causando elevadas mortalidades. En rodaballo todos los tamaños son susceptibles y los síntomas son color oscuro, peces anoréxicos con los ojos hundidos y la cresta ósea muy pronunciada en la cabeza. Internamente presentan ascitis y palidez en los órganos, con el tubo digestivo distendido y lleno de líquido, y hemorragias en la porción final del intestino que se consideran lesiones patognomónicas de la enfermedad. Las esporas son difíciles de observar, así que el diagnóstico presuntivo por los síntomas tendrá que confirmarse por histología o técnicas moleculares. No hay productos efectivos, se pueden utilizar inmunoestimulantes pero lo importante es la detección precoz, desinfección y retirada de mortalidad (Zarza y Aizpurua, 2001).

Amebiasis: afecta a rodaballo y lenguado. Enfermedad externa causada por amebas (*Neoparamoeba sp.* y *Endolimax piscium*), un ectoparásito que coloniza la piel y branquias y causa aumento de la mucosidad y dificultad respiratoria. Se diagnostica por observación al microscopio de frotis de piel y branquia.

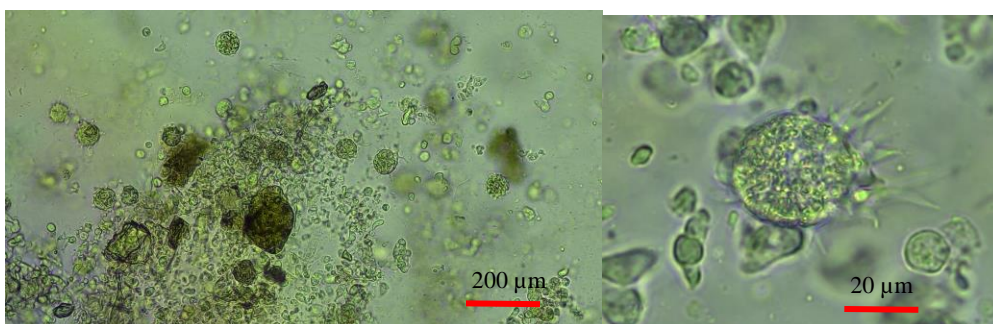


Fig. 16: amebas en frotis de branquia de rodaballo

Tricodiniasis: afecta a rodaballo y lenguado. Enfermedad externa causada por *Thrichodina sp.* Es un ectoparásito que coloniza la piel y branquias. Provoca congestión branquial, aumento de la mucosidad y dificultad respiratoria con ventilación forzada. Se diagnostica por observación al microscopio de frotis de piel y branquia.

Ictiobodiasis o Costiasis: afecta a rodaballo y lenguado. Es una enfermedad externa causada por *Icthiobodo sp.*, un ectoparásito que coloniza piel y branquias y produce cambios en la pigmentación, aumento del mucus en branquias y respiración forzada. Se diagnostica por observación al microscopio de frotis de piel y branquia.

4.4. ENFERMEDADES FÚNGICAS

Síndrome Necrótico Ulcerativo Fúngico: enfermedad causada por *Exophiala angulospora/Exophiala aquamarina*. Externamente puede provocar lesiones en la piel, aletas y ojos llegando a producir úlceras. Los peces se ven más afectados tras los manejos. Se desconoce la etiología de la enfermedad, pudiendo estar asociada a infecciones secundarias de bacterias o parásitos. Se diagnostica por observación al microscopio (Fig. 17) y se previene mediante desinfección, limpieza de tanques y retirada de peces afectados

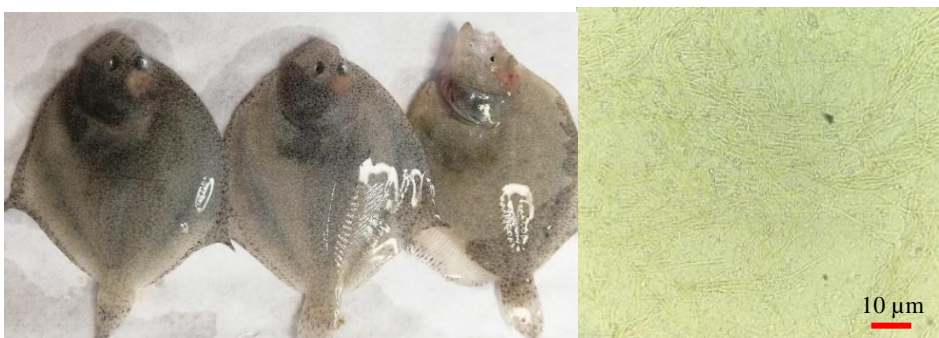


Fig. 17: úlcera infectada con hongos en la cabeza en juveniles de rodaballo

5. CONCLUSIÓN

Como valoración personal tras este tiempo de aprendizaje en Acuidoro S.L., agradezco la oportunidad de poder ver cómo funciona una empresa de acuicultura desde dentro y de poder realizar trabajos relacionados con la salud y el bienestar animal. El manejo de una planta de acuicultura es un trabajo de mucha responsabilidad que se reparte entre cada departamento que lo forma, siendo el papel de cada uno igualmente importante en asegurar la viabilidad, la trazabilidad y el cuidado de la producción. Considero que el tiempo dedicado a estas prácticas me sirvió para ver el funcionamiento del departamento de salud y poder poner en práctica los conocimientos adquiridos durante el curso, en varias etapas del cultivo de rodaballo y lenguado.

En cuanto a las propuestas de mejora, se trata de una empresa con muchos años de experiencia y una granja bien estructurada, pero hay algunos aspectos del proceso productivo o de la granja que se podrían mejorar, que cito a continuación:

Debido al uso de las instalaciones, algunos de los tanques en el engorde de rodaballo y preengorde tienen fisuras en el hormigón, lo que ocasiona filtraciones que pueden actuar

como un reservorio de patógenos. Del mismo modo, hay algunas sacaderas dañadas o descosidas, que, aunque se trate de una cuestión menor, puede facilitar la captura de los peces si se arreglan.

En el RAS de lenguado, la limpieza de los biofiltros sería más fácil si fueran decantadores, para purgar por debajo la suciedad, ya que son bastante planos dificultando la limpieza. En la planta baja del RAS, los peces se venden sin clasificar por tamaños; si se instala otra clasificadora en este piso, aunque seguramente suponga contratar más empleados, una clasificación preventiva haría que las tallas fuesen más uniformes, redundando en una mejor acogida por los compradores.

En cuanto a la dieta del lenguado y rodaballo, promover la innovación industrial en biotecnología marina para conseguir autorizar más probióticos en la Unión Europea, ya que es una alternativa natural respetuosa con el medio, tanto para la prevención como para la reducción de la incidencia de enfermedades en los peces. Otra cuestión, la necesidad de investigación con más productos desinfectantes para eliminar patógenos, ya que, por ejemplo, para combatir ciliado el único producto desinfectante registrado en España es el Aquacen. Ampliar el estudio de virología, investigar más en la aparición de virus emergentes que puedan afectar a estos cultivos.

Por último, estudiar la posibilidad de abastecimiento de agua dulce para la granja, sin depender del agua externa y también plantear la posibilidad de autosuficiencia eléctrica con molinos eólicos en la granja o el aprovechamiento de la energía maremotriz.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ APROMAR, 2020. La acuicultura en España. p. 34, 50, 55
- ❖ Arranz Tagarro, J. A. (2008). Inmunobiología de la escuticociliatosis del rodaballo «Psetta maxima» (L) en cultivo. Universidade de Santiago de Compostela. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico. <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/2433>
- ❖ Avendaño-Herrera, R. E. (2005). Avances en el conocimiento del patógeno de peces «Tenacibaculum maritimum»: Implicaciones en el diagnóstico y prevención de la enfermedad [Http://purl.org/dc/dc/mitype/Text, Universidade de Santiago de Compostela]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=108640>
- ❖ Bandín, I., & Souto, S. (2020). Betanodavirus and VER Disease: A 30-year Research Review. Pathogens, 9(2), 106. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020106>
- ❖ Canavate, J. P. (2013). Cultivo de soleidos: El lenguado senegalés (pp. 243-272).
- ❖ Carazo Ortega, I. (2013). Comportamiento reproductivo y fisiología del lenguado senegalés, (*Solea Senegalensis*) en cautividad / Reproductive Behaviour and Physiology of Senegalese Sole, (*Solea Senegalensis*) Broodstock in Captivity [Ph.D. Thesis, Universitat de Barcelona]. En TDX (Tesis Doctorals en Xarxa). <http://www.tdx.cat/handle/10803/107945>
- ❖ Castellanos, P. M. A., Camargo, C. A. C., & Granados, N. R. P. (2015). Análisis de interferencia de parámetros físicos del agua, en desinfección por radiación UV. Revista de Tecnología, 14(2), 105-112. <https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1874>
- ❖ Castellar Carranza, E. M. (2020). Revisión bibliográfica. Reproducción de *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) en cautividad: Inducción hormonal. <https://riucv.ucv.es/handle/20.500.12466/1139>.
- ❖ Dinis M.T. (1986). Quatre Soleidae de l'Estuaire du Tage. Reproduction el Croissance. Essai d'Élevage de *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). Thèse d'Étatès-Sciences Naturelles, Université de Bretagne Occidentale, France.
- ❖ Eryilmaz, L., & Dalyan, C. (2015). Age, growth, and reproductive biology of turbot, *scophthalmus maximus* (Actinopterygii: Pleuronectiformes: *Scophthalmidae*), from

the South-Western coasts of Black Sea, Turkey. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 45, 181-188. <https://doi.org/10.3750/AIP2015.45.2.08>

- ❖ Faílde García, L. D. (2013). Tenacibaculosis en lenguado y rodaballo: Caracterización morfológica y de la respuesta inmunitaria. <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/7105>.
- ❖ FAO. 2009. *Psetta maxima*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Rodríguez Villanueva, J. L. & Fernández Souto, B. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).
- ❖ Fernández, E. F. (2018). Reproducción, olfato y dominancia en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). *AquaTIC: revista electrónica de acuicultura*, 52, 30-32.
- ❖ Fernández-Pato, C. (1998). Aspectos biológicos y tecnológicos del cultivo del rodaballo *Scophthalmus maximus* L., 1758. Microfichas. Instituto Español de Oceanografía, 12, 1-185.
- ❖ FishBase (1999). *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758). <https://www.fishbase.se/summary/scophthalmus-maximus.html> (revisado el 10/01/2022)
- ❖ FishBase (1999). *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) <https://www.fishbase.se/summary/solea-senegalensis.html> (revisado el 12/01/2022)
- ❖ García, A. P. L. (2013). Enteromixosis del rodaballo: Esclarecimiento de mecanismos patogénicos y rutas de la respuesta inmunitaria [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidade de Santiago de Compostela]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=122067>
- ❖ García Carballas, C. M. (2018). Respuesta inmune en rodaballo (*Psetta máxima*) y lenguado (*Solea sp.*). Efecto de la vacunación. <https://minerva.usc.es/xmlui/handle/10347/18027>
- ❖ Gozalbo, A., & Josep, M. (2007). Fisiología de la reproducción del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*): Mecanismos endocrinos y aplicaciones en acuicultura. <https://digital.csic.es/handle/10261/130831>

- ❖ Hanson, L., Dishon, A., & Kotler, M. (2011). Herpesviruses that Infect Fish. *Viruses*, 3(11), 2160-2191. <https://doi.org/10.3390/v3112160>
- ❖ Hellberg, H., Koppang, E. O., Tørud, B., & Bjerkås, I. (2002). Subclinical herpesvirus infection in farmed turbot *Scophthalmus maximus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 49(1), 27-31. <https://doi.org/10.3354/dao049027>
- ❖ ITO, T. (1955). Studies on the mizukawari in eel-culture ponds. I. The feeding activity of *Brachionus plicatilis* on phytoplankton (as a cause of mizukawari). En: *Rotifer and microalgae culture systems*, W. Fulks & K.L. Main (Eds.): 26, Proceedings of a U.S. - Asia workshop (January 28-31, 1991). Honolulu, Hawaii: 364 pp.
- ❖ ITO, T. (1957). Chlorine contents and plankton fauna of eel-culture ponds on the west coast of Ise Bay. En: *Rotifer and microalgae culture systems*, W. Fulks & K.L. Main (eds.): 27, Proceedings of a U.S.- Asia workshop (January 28-31, 1991). Honolulu, Hawaii: 364 pp.
- ❖ ITO, T. (1960). On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Müller in the sea water. En: *Rotifer and microalgae culture systems*, W. Fulks & K.L. Main (Eds.): 26, Proceedings of a U.S.- Asia workshop (January 28-31, 1991). Honolulu, Hawaii: 364 pp
- ❖ Medina, J., Paciel, D., Noceti, O., Rieppi, G., Medina, J., Paciel, D., Noceti, O., & Rieppi, G. (2017). Actualización acerca de colistina (polimixina E): Aspectos clínicos, PK/PD y equivalencias. *Revista Médica del Uruguay*, 33(3), 79-114. <https://doi.org/10.29193/rmu.33.3.5>
- ❖ OIE. Organización Mundial de la Sanidad Animal. Manual de las pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos (2021a). Capítulo 2.3.10. Infección por el virus de la septicemia hemorrágica vírica. Páginas 13-15. Revisado el 17/01/2022. https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahm/current/chapitre_vhs.pdf
- ❖ OIE. Organización Mundial de la Sanidad Animal. Manual de las pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos (2021b). Capítulo 2.3.5. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa. Página 8. Revisado el 17/01/2022.

https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/aahm/current/2.3.05_IH_N_ESP.pdf

- ❖ Peleteiro-Alonso, J. B. (José B. (2005). Control de la reproducción del rodaballo *Scophthalmus maximus* (L., 1758) en cautividad. <http://www.repositorio.ieo.es/e-ieo/handle/10508/1385>
- ❖ Rasines, I. (2013). Reproducción en cautividad del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*): Inducción hormonal a la ovulación y obtención de huevos para la fecundación artificial [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidad de Oviedo]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=85286>
- ❖ Rodríguez Villanueva, J. L. & Peleteiro Alonso, J. B. (2014). Cultivo del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) (7. Cuadernos de acuicultura). FOESA. <http://www.repositorio.ieo.es/e-ieo/handle/10508/1978>
- ❖ Rodríguez Villanueva, J. L. (2011). Cultivo del rodaballo (*Scophthalmus maximus*). Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <https://elibro.net/ereader/elibrodemo/41626>
- ❖ Rodríguez, R.B. 1984. Biología y cultivo de *Solea senegalensis* (Kaup 1858) en Golfo de Cádiz. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla. Sevilla, España: 207 pp.
- ❖ Valenzuela, R., Martínez Silva, P., & Arevalo, J. (2018). Evaluación preliminar de un sistema de recirculación de aguas para un prototipo implementado en la producción de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) Preliminary evaluation of a water recirculation system for a prototype implemented in the production of red tilapia (*Oreochromis* sp.). Ingeniería y Región, 18. <https://doi.org/10.25054/22161325.1737>
- ❖ Zarza, C. y Aizpurúa, J. (2001). Principales parasitosis de peces marinos cultivados en los Países Mediterráneos. Informa, verano 2001, 18-24.
- ❖ Zarza, C., Padrós, F., Estévez, A. (2005). Situación sanitaria actual del cultivo de peces planos II: Patología del Lenguado. Skretting informa, verano 2005, 14-24.