

Fisiología de la nutrición y del estrés en las primeras fases de vida del pulpo común (*Octopus vulgaris*). Resultados del proyecto OCTOPHYS

E. Almansa¹, J.C. Navarro², C. Rodríguez³, J. Iglesias⁴, A. Estévez⁵, G. Cardenete⁶, O. Monroig², D. Garrido¹, D. Reis³, J. Sánchez⁴, J. Pérez⁵, F. Hontoria², P. Domingues⁴, I. Varó², NG. Acosta³, J.J. Otero⁴, AE. Hernández⁶, I. Gairín⁵, V. Martín¹, D. Tocher⁷ y F. Amat²

¹Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Canarias, Apartado 1373, 38180 Santa Cruz de Tenerife.
E-mail: eduardo.almansa@ca.ieo.es

²Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), 12595 Ribera de Cabanes, Castellón

³Departamento de Biología Animal, Universidad de La Laguna, 38206 La Laguna, Tenerife

⁴Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Vigo, Apartado 1552, 36200 Vigo,

⁵Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, San Carlos de la Rápita, Ctra. Poble Nou Km 6, 43540 San Carlos de la Rápita, Tarragona.

⁶ Departamento de Zoología, Universidad de Granada, Campus de Fuentenueva, 18071 Granada,

⁷Institute of Aquaculture, School of Natural Sciences, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, Escocia

Summary

The culture of the common octopus (*Octopus vulgaris*) is hindered by high mortalities encountered during its paralarval rearing, although at present, the specific causes for the high mortalities observed remain unidentified. This project aims at gathering a better understanding of the basic biology and physiology of the paralarvae, through a multidisciplinary and integrated approach, which includes the study of the physiology of nutrition and the evaluation of the stress condition. The objectives proposed are based on a strong zootechnical input and foresee the use of biometric, biochemical, enzymatic, molecular biology and proteomic tools, pointing towards the ultimate optimisation of the paralarval condition and survival. They also include the study of the nutritionally-derived stress and the selection of biomarkers capable of its detection and quantification.

Resumen

El cultivo del pulpo común (*Octopus vulgaris*) está severamente limitado por las altas mortalidades que se producen durante su cultivo larvario, aunque en la actualidad, las causas específicas de tan alta mortalidad siguen siendo desconocidas. Este proyecto pretende adquirir conocimientos básicos sobre la biología y fisiología de las paralarvas a través de un enfoque multidisciplinar que incluye aspectos innovadores relacionados con la fisiología de la nutrición y el estrés. Los objetivos propuestos están basados en un fuerte input zootécnico y prevén el uso de herramientas biométricas, bioquímicas, enzimáticas, moleculares y proteómicas, con el fin último de optimizar la condición y supervivencia de las paralarvas. Incluyen asimismo la búsqueda y selección de biomarcadores capaces de detectar y cuantificar el estrés nutricional.

Justificación

El cultivo de pulpo común (*Octopus vulgaris*) presenta una elevada mortalidad larvaria que hace inviable su desarrollo a escala industrial, al no poderse obtener individuos bentónicos de larvas nacidas en cautividad. Las disfunciones nutricionales parecen estar en la base del problema, ya que el único y muy limitado éxito de los estudios de los cultivos se ha obtenido empleando zoeas de crustáceos decápodos. Hasta el momento, la mayoría de los estudios se han centrado en la zootecnia y análisis bioquímico de presas y paralarvas. Pese a ello, no se ha conseguido reducir de forma significativa la mortalidad larvaria. El proyecto OCTOPHYS (AGL-2010-22120-C03-02) pretende dar una aproximación multidisciplinar para optimizar la condición y supervivencia de las paralarvas, mejorando el conocimiento de los parámetros relacionados con la fisiología de la nutrición y del estrés.

Objetivos

1.- Caracterización de los parámetros relacionados con la fisiología de la nutrición y el estrés en las paralarvas de *Octopus vulgaris*. Incluye análisis bioquímicos, determinación de marcadores de estrés y estudio del metabolismo lipídico mediante marcaje radiactivo y caracterización de los enzimas implicados en la biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA).

2.- Desarrollo de enriquecedores de presas vivas y su aplicación en cultivos a pequeña escala (100L).

3.- Cultivo semi-industrial (500L) en base a resultados previos. Análisis de los parámetros relacionados con la fisiología de la nutrición y el estrés.

Resultados

Objetivo 1: Se realizó un ensayo seleccionando las condiciones que, según la bibliografía y experiencia previa del grupo, mejor han funcionado, incluyendo una dieta óptima (zoeas de centolla, *Maja squinado*), una subóptima (*Artemia* enriquecida con *Isochrysis* y *Nannochloropsis*) y un tercer grupo en inanición. Se realizó: composición lipídica de presas y paralarvas, biomarcadores clásicos RNA/DNA, HSP-70, ROS, TBARS y de oxidación de proteínas, y un análisis de proteómica entre los distintos tratamientos. Se han desarrollado protocolos de aislamiento celular e incubación *in vivo* e *in vitro* para el estudio de la incorporación y metabolismo de ácidos grasos y clases lipídicas, destacando, en el caso de las paralarvas, la importancia del ARA y su incorporación en la fosfatidiletanolamina. Se han caracterizado las enzimas elongasas (Elovl 2-5 y Elovl 4) y desaturasas ($\Delta 5$ y $\Delta 9$) implicadas en la biosíntesis de PUFA, detectándose una limitada capacidad de síntesis de 20:5n-3 (EPA), 20:4n-6 (ARA) o 22:6n-3 (DHA).

Objetivo 2: Se han desarrollado nuevas técnicas de enriquecimiento en *Artemia* que mejoran de forma simultánea los niveles en lípidos polares y PUFA en la *Artemia*. Se ha demostrado la incorporación preferente de DHA en los lípidos neutros de la *Artemia*. En relación a los ensayos en 100L, se ha llevado a cabo un ensayo de intercalibración de las condiciones de cultivo entre los distintos centros (IEO-Tenerife; IEO-Vigo e IRTA). Se han obtenido buenos resultados enriqueciendo la *Artemia* con fosfolípidos marinos y se ha visto efecto del cobre y del agua verde en el cultivo de paralarvas.

Objetivo 3: Se ha diseñado un protocolo de cultivo en 500L en base a los resultados previos con el que se está realizando un ensayo de intercalibración. Se están analizando los parámetros relacionados con la fisiología de la nutrición y del estrés en las paralarvas obtenidas. Paralelamente se está haciendo una revisión y análisis en profundidad de todos los estudios realizados hasta la fecha.

Conclusiones

Los ensayos realizados bajo las condiciones de cultivo establecidas han permitido generar material en cantidad y calidad suficiente para obtener datos pioneros en la caracterización de las principales rutas de esterificación y biosíntesis de ácidos grasos y de sus enzimas, lo que aporta información esencial sobre requerimientos dietarios. Se han identificado nuevos biomarcadores que contribuirán a caracterizar las mortalidades masivas mediante la detección y cuantificación del estrés nutricional. Se han desarrollado nuevos enriquecedores de presas vivas, estudiando su efecto en la condición y composición bioquímica de las paralarvas y por último, se ha diseñado e intercalibrado un protocolo de cultivo a escala semi-industrial entre los diferentes centros.

Agradecimientos

El proyecto OCTOPHYS ha sido financiado por el MICIIN (AGL-2010-22120-C03-02). OM está contratado por el programa Juan de la Cierva. DR disfruta de una beca predoctoral (SFRH/BD/76863/2011) de la FCT (Portugal) y DG disfruta de una beca FPI financiada por el IEO.