

**Un metanálisis sobre el crecimiento de las paralarvas de pulpo común (*Octopus vulgaris*) alimentadas con diferentes presas vivas**

D. Garrido<sup>1</sup>, M.V. Martín<sup>1</sup>, C. Rodríguez<sup>2</sup>, J. Iglesias<sup>3</sup>, J.C. Navarro<sup>4</sup>, A. Estévez<sup>5</sup>, F. Hontoria<sup>4</sup>, M.A. Becerro<sup>6</sup>, J.J. Otero<sup>3</sup>, J. Pérez<sup>5</sup>, I. Varó<sup>4</sup>, D.B. Reis<sup>1,2,7</sup>, R. Riera<sup>8</sup>, A.V. Sykes<sup>7</sup>, E. Almansa<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Canarias, Vía Espaldón, Dársena Pesquera PCL 8, 38180 Santa Cruz de Tenerife, España.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Animal, Edafología y Geología, Facultad de Ciencias, 38206, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna, España.

<sup>3</sup>Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Vigo, Subida a Radio Faro 50, 36390 Vigo, España.

<sup>4</sup>Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), 12595 Ribera de Cabanes, España.

<sup>5</sup>IRTA SantCarles de la Ràpita, Ctra. Poble Nou, km. 5.5, 43540, SantCarles de la Ràpita, España.

<sup>6</sup>Instituto de Productos Naturales y Agrobiología (IPNA-CSIC). San Cristóbal de La Laguna, España.

<sup>7</sup>CCMAR - Centro de Ciências do Mar, Universidade do Algarve, Faro, Portugal.

<sup>8</sup>Centro de Investigaciones Medioambientales del Atlántico (CIMA SL). Santa Cruz de Tenerife, España.

## Abstract

This study used meta-analysis to quantitatively review the effect of feeding with different live preys (*Artemia* and crustacean zoeae) and/or enriched *Artemia* on the growth of common octopus (*Octopus vulgaris*) paralarvae through a meta-analysis. A total of 26 independent assays allowed testing for growth differences between: (i) crustacean zoeae vs *Artemia*, (ii) different crustacean species, and (iii) *Artemia* enriched with marine phospholipids vs previously used *Artemia* enrichments. A better growth on paralarvae fed crustacean zoeae vs *Artemia* was observed. However, not all crustacean species showed the same results, given that the high variability on *Grapsus* zoeae hampered finding significant differences with respect to the control treatment (*Artemia*). Finally, the enrichment of *Artemia* with marine phospholipids improved the growth of paralarvae, which could be related to the increment in docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) and total polar lipid in *Artemia*.

## Resumen

El objetivo del presente estudio fue comparar el efecto de la alimentación con diferentes presas vivas (*Artemia* y zoeas de crustáceos) y/o *Artemia* enriquecida, sobre el crecimiento de paralarvas de pulpo común (*Octopus vulgaris*) a través de un meta-análisis. Se usaron un total de 26 ensayos independientes para analizar las diferencias en crecimiento entre: (i) zoeas de crustáceos vs *Artemia*, (ii) diferentes especies de crustáceos y (iii) *Artemia* enriquecida con fosfolípidos marinos vs otros enriquecedores de *Artemia*. Se observó un mejor crecimiento de las paralarvas alimentadas con zoeas de crustáceos vs *Artemia*. Sin embargo, no todas las zoeas mostraron los mismos resultados, dada la alta variabilidad observada con el género *Grapsus* que impidió que se pudieran apreciar diferencias respecto a la *Artemia* usada como control. Finalmente, el enriquecimiento de *Artemia* con fosfolípidos marinos mejoró el crecimiento de las paralarvas, lo cual podría estar relacionado con el incremento en los niveles del ácido docosahexaenoico ((DHA, 22:6n-3) y de los lípidos polares en *Artemia*.

## Justificación

El pulpo común (*Octopus vulgaris*) es una especie de gran interés para la acuicultura, aunque la elevada mortalidad registrada en sus primeras fases de vida impide avanzar en su cultivo. La ausencia de una dieta adecuada parece ser una de las principales causas de esta mortalidad, aunque la alta variabilidad en las condiciones zootécnicas de los ensayos realizados hasta el momento es otra dificultad añadida. El uso de herramientas estadísticas como el meta-análisis permite comparar los resultados de estudios independientes de forma objetiva. El presente estudio pretende comparar el crecimiento de las paralarvas alimentadas con diferentes presas vivas (*Artemia* y zoeas de crustáceos) y/o diversas técnicas de enriquecimiento de *Artemia* a través de un meta-análisis, usando para ello datos ya publicados junto con datos obtenidos en el proyecto OCTOPHYS (ver detalles en agradecimientos). Las comparaciones estudiadas fueron: (i) zoeas de crustáceos vs *Artemia*, (ii) diferencias entre diversas especies de crustáceos y (iii) *Artemia* enriquecida con fosfolípidos marinos (Marine lecithin LC60) vs otros enriquecedores de *Artemia*.

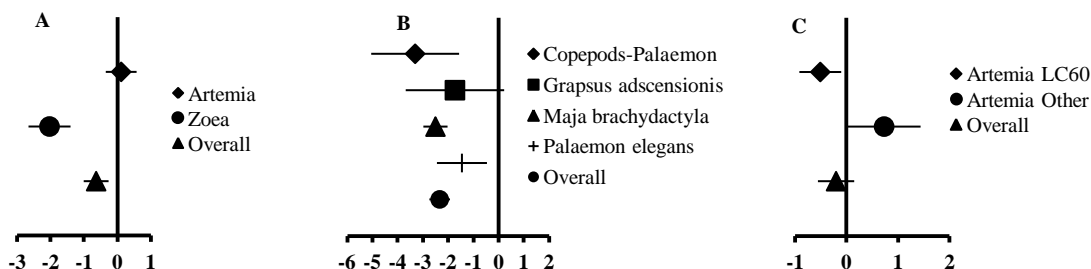
## Material y métodos

En un primer paso se seleccionaron los estudios publicados que cumplieran los requisitos para aplicar el meta-análisis (un control y datos con media, desviación estándar y tamaño muestral). Estos trabajos fueron: Villanueva *et al.*, 2004; Estevéz *et al.*, 2009; Seixas *et al.*, 2009; Viciano *et al.*, 2011 y Reis *et al.*, 2014. Así mismo se incluyeron los ensayos realizados en el proyecto OCTOPHYS bajo condiciones de cultivo estandarizadas, dando como resultado un total de 26 ensayos independientes. Se utilizó un modelo de efectos aleatorios (*Random*). El efecto de los tratamientos sobre el peso seco de las paralarvas (denominado: Tamaño del efecto), se calculó mediante la diferencia de medias estandarizadas (tratamiento control - tratamiento experimental) para cada estudio, así como para el conjunto de todos ellos. La representación gráfica de estos valores indica una mejoría en los pesos secos de las paralarvas si éstos quedan a la izquierda del eje vertical, siempre que el intervalo de confianza al 95% (IC-barras horizontales) no intercepte el eje vertical. La variabilidad entre estudios se evaluó analizando la heterogeneidad (Q).  $P < 0.05$  se consideró significativamente diferente.

## Resultados y discusión

Los resultados del meta-análisis confirman estadísticamente que las zoeas mejoran el crecimiento de las paralarvas con respecto a la *Artemia* ( $P < 0.05$ ) (Figura 1A). Sin embargo, no todas las zoeas mostraron los mismos resultados. Así, la alta variabilidad observada en el peso de las paralarvas con el género *Grapsus* impidió que se puedan apreciar diferencias respecto a la *Artemia* usada como control ( $P > 0.05$ ) (Figura 1B). Finalmente, estos resultados sugieren que el uso de fosfolípidos marinos (LC60) mejora el

crecimiento de las paralarvas respecto a otros enriquecedores ( $P < 0.05$ ) (Figura 1C), lo cual podría estar relacionado con el incremento en los niveles de DHA y de los lípidos polares en la *Artemia*, componentes que parecen ser esenciales en el desarrollo de las paralarvas.



**Figura 1.** Tamaño del efecto medio. **A.** Zoeas de crustáceos (n=7) vs *Artemia* (n=19). **B.** Distintas especies de crustáceos (n=7). **C.** *Artemia* enriquecida con fosfolípidos marinos (n=9) vs otros enriquecedores de *Artemia* (n=10). Overall: media de todos los datos. Ver Material y Métodos para una mejor interpretación de las gráficas.

## Bibliografía

Estévez A, Gairin I, Berger E (2009) Wild zooplankton for *Octopus vulgaris* larval rearing. In: Hendry CI, Van Stappen G, Wille M, Sorgeloos P (ed.) LARVI 09, Fish & shellfish larviculture symposium, special publication No. 38. European Aquaculture Society, Oostende, pp 88–91.

Reis, D.B., I. García-Herrero, R. Riera, B.C. Felipe, C. Rodríguez, A.V. Sykes, M.V. Martín, J.P. Andrade y E. Almansa (2014) An insight on *Octopus vulgaris* paralarvae lipid requirements under rearing conditions. *Aquaculture Nutrition*, doi 10.1111/anu.12205

Seixas P (2009) Composición bioquímica y crecimiento de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797), alimentadas con juveniles de *Artemia* enriquecidos con microalgas y otros suplementos nutricionales. PhD Thesis, University of Santiago de Compostela, p 279. ISBN: 978-84-9887-253-8.

Viciano E, Iglesias J, Lago MJ, Sánchez FJ, Otero JJ, Navarro JC (2011) Fatty acid composition of polar and neutral lipid fractions of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 paralarvae reared with enriched on-grown *Artemia*. *Aquaculture Research* 42: 704-709.

Villanueva R, Riba J, Ruíz-Capillas, González AV, Baeta M (2004) Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture* 242: 455-478.

## Agradecimientos

Al proyecto OCTOPHYS (Ref. AGL2010-22120-C03) financiado por el MINECO (Gobierno de España) y a la Beca FPI del Instituto Español de Oceanografía que disfruta Diego Garrido Lorenzo (BOE, 3 de noviembre de 2011). D.B. Reis (SFRH/BD/76863/2011) es becaria de la Fundação para a Ciência e a Tecnologia