

## Primer ensayo para el cultivo auxiliar del crustáceo anfípodo *Caprella scaura*

Elena Baeza-Rojano<sup>a</sup>, Sandra Calero-Cano<sup>b</sup>, Ismael Hachero-Cruzado<sup>b,c</sup>, Jose Manuel Guerra-García<sup>a</sup>

### Palabras clave:

Anfípodos, *Caprella scaura*, cultivo, alimento alternativo.

de su sustrato lo que permitiría la utilización de diferentes estructuras para optimizar el espacio del tanque y obtener mayores densidades.

## Resumen

La escasez de presas que son usadas para la producción de las especies de peces, crustáceos y moluscos objetos de la acuicultura, nos lleva a la búsqueda de nuevos alimentos alternativos que puedan mejorar su cultivo y aportar nuevas composiciones nutricionales para su dieta. Los anfípodos son crustáceos de pequeño tamaño que se encuentran en gran número en el medio en el que habitan (ecosistemas marinos y dulceacuícolas). La mayoría de ellos son bentónicos y detritívoros, y son el alimento natural de muchas especies de peces y moluscos de alto valor comercial. *Caprella scaura* es un anfípodo del suborden Caprellidea que posee una amplia distribución mundial y alcanza altas densidades bajo condiciones favorables. Al igual que el resto de especies de anfípodos de nuestra latitud posee un ciclo de vida rápido con numerosas mudas. Al llegar a la madurez sexual, tras cada muda se produce la cópula con fecundación interna, dando lugar a la descendencia, la cual posee desarrollo directo sin presentar fase larvaria. Son iteróparos, pudiéndose reproducir continuamente desde su madurez hasta su muerte, permitiéndoles aumentar su población en un periodo de tiempo muy corto. El objetivo de este estudio fue averiguar si era posible llevar a cabo el cultivo de la especie de caprélido *C. scaura* bajo condiciones controladas y obtenerse altas densidades con su crecimiento. El cultivo se mantuvo durante tres meses, tras los cuales se midió el número final de individuos, número de adultos y juveniles, longitud total, sex ratio, y fecundidad de las hembras. Además se estudió la preferencia por diferentes sustratos artificiales con diferente grado de compactación para el agarre de los caprélidos. Los resultados revelaron que *C. scaura* es una especie fácilmente adaptable a condiciones artificiales de crecimiento, obteniéndose altas densidades en un periodo de tiempo considerablemente corto. No presentó ninguna preferencia clara por el grado de compactación

<sup>a</sup> Laboratorio de Biología Marina, Dpto. Fisiología y Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avda. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, España. Email: [elenbae@us.es](mailto:elenbae@us.es)

<sup>b</sup> IFAPA- Agua del Pino. Carretera Punta Umbría - Cartaya, s/n. Cartaya, España.

<sup>c</sup> IFAPA-El Toruño. Camino Tiro Pichón s/n. El Puerto de Santa María, Cádiz, España.

## Comportamiento de los juveniles de la lapa amenazada *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 (Mollusca, Patellidae) en tanques de cultivo

Juan B. Peña<sup>a</sup>, Javier Guallart<sup>b</sup> y Josu Pérez<sup>c</sup>

La lapa ferruginosa (*Patella ferruginea* Gmelin, 1791) es un gasterópodo endémico del Mediterráneo occidental, cuya población se ha visto mermada a lo largo del pasado siglo. En la actualidad está prácticamente extinta en las costas continentales europeas y las poblaciones en mejor estado se localizan en algunos enclaves del litoral del Magreb. Esta especie está considerada como uno de los invertebrados marinos mediterráneos más amenazados, encontrándose en la lista de la Directiva Europea 92/43/EEC e incluida en el Catálogo Español de Especies Amenazadas como “en peligro de extinción”.

Con el fin de desarrollar técnicas para reducir el riesgo de extinción de la especie se están realizando trabajos de inducción al desove en cautividad, cultivo larvario y mantenimiento de juveniles en tanques en tierra firme dentro del proyecto “Action plan for viability proposals of the endangered limpet, *Patella ferruginea*” financiado por la Fundación General CSIC. Si bien la técnica de obtención de huevos y su fertilización está bastante avanzada, el cultivo de los juveniles de pocos milímetros de longitud de concha hasta el tamaño adecuado para su repoblación es un aspecto poco conocido, en parte porque todavía no se ha estudiado el mejor tipo de alimento, las condiciones óptimas de los tanques y el comportamiento de las lapas en los tanques de cultivo.

Dentro de las distintas estrategias de comportamiento del género *Patella*, la lapa ferruginosa se caracteriza por habitar en el piso mesolitoral superior y por presentar fidelidad a un determinado punto del sustrato, su “huella”, al que adapta la concha y al que regresa después de cada una de sus excursiones tróficas. La información disponible acerca de su comportamiento es limitada pero indica que los ejemplares tienden a realizar sus desplazamientos tróficos sobre todo cuando son bañadas por el oleaje, con marea alta y secundariamente durante la noche; se ha observado además que la frecuencia de los desplazamientos es superior en los adultos de mayor talla y que a menudo tiene lugar el cambio de huella, como respuesta a diferentes cambios ambientales (Guallart y Acevedo, 2006). Estos datos proceden del seguimiento de ejemplares adultos en el medio natural.

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el

comportamiento de juveniles de pequeño tamaño de *P. ferruginea* en tanques de cultivo, tanto como una contribución al conocimiento de la biología de la especie como un requerimiento para establecer las condiciones óptimas en su cultivo.

En dos campañas realizadas en las islas Chafarinas, en julio y noviembre de 2011 se trasladaron ejemplares juveniles del primer año de edad (“reclutas”) a las instalaciones del IRTA en Sant Carles de la Ràpita (Tarragona) y del Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (Castellón) con el fin de desarrollar técnicas para su estabulación y pre-engorde y de estudiar su crecimiento y su comportamiento en condiciones de laboratorio. Para ello, tras unas semanas de acondicionamiento, todos los juveniles se marcaron individualmente con una etiqueta numerada Dymo® que se pegó con cola Loctite® sobre el dorso de la concha. El experimento dio comienzo el 13 de septiembre de 2011 y se prolongó hasta el 13 de junio de 2012, dejándose de observar durante las fiestas navideñas. Es por ello que, de unos ejemplares sólo se tienen datos de los primeros tres meses (otoño), de otros, de los últimos cinco meses (invierno y primavera) y de algunos, de todo el periodo de estudio. Cada día, de lunes a viernes, a las 8:30 se anotaba la posición de cada ejemplar tomando como referencia los 360 grados del tanque circular y la distancia del extremo superior de la concha de la lapa con respecto al borde del tanque y a la superficie del agua dentro éste. La entrada de agua al tanque se produce en la posición de los 50° y la aireación-burbujeo se localiza a 5° y a 355°. Se ha considerado que una lapa cambiaba de huella cuando se desplazaba más de 5°. Teniendo en cuenta que el tanque cilíndrico donde se ha llevado a cabo el experimento tiene un diámetro de 56 cm, la distancia recorrida en 5° supone 2,4 cm.

Los juveniles de *P. ferruginea* en el interior de los tanques de cultivo mantienen en general un comportamiento de fidelidad a la huella como el descrito en el medio natural, aunque algunos ejemplares cambian de ubicación con cierta frecuencia. El comportamiento trófico observado en estos juveniles se ha clasificado en cuatro tipos, según el tiempo de ocupación de la huella y los movimientos realizados para cambiar y disponerse en nuevas huellas.

Tipo I: la lapa se instala en una huella, donde permanece durante largos periodos de tiempo. Puede moverse al atardecer en busca de alimento, pero regresa a la misma huella. Este comportamiento es muy raro y sólo se ha observado en un 7,2% de las lapas estudiadas.

Tipo II: la lapa busca una ubicación, donde se instala durante periodos de tiempo más o menos largos, pero cambia de posición unos días, regresando de nuevo a la antigua huella. De todas las

<sup>a</sup> Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (CSIC) ([jbpenya@iats.csic.es](mailto:jbpenya@iats.csic.es)).

<sup>b</sup> Museo Nacional de Ciencias Naturales (-CSIC) ([javier.guallart@uv.es](mailto:javier.guallart@uv.es)).

<sup>c</sup> Institut de Recerca i Tecnologia Agro-Alimentaria de la Generalitat de Catalunya (IRTA) ([josu.perez@irta.cat](mailto:josu.perez@irta.cat))

lapas controladas, un 21,4% mostraron este comportamiento.

Tipo III: es el más frecuente, seguido por el 50% de las lapas observadas, según el cual la lapa en los primeros días busca una huella donde permanece varias semanas, cambia de posición y permanece en ella unas semanas y vuelve a cambiar de ubicación persistiendo algún tiempo antes de volver a moverse.

Tipo IV: la lapa no tiene una huella fija, cambia continuamente de ubicación, aunque puede permanecer varias semanas en una misma huella, pero tiene tendencia a modificar su posición con mucha frecuencia. Este comportamiento se observó en un 21,4% de las lapas estudiadas.

A diferencia de las superficies irregulares de las rocas del medio natural, en la superficie lisa de los tanques de cultivo, las lapas no tienen que modificar su concha tras cada cambio de huella. Al inicio del experimento tras su traslado a los tanques de cultivo se observó el crecimiento de la concha para adaptarse mejor a la curvatura de los tanques cilíndricos.

Durante las dos fases del seguimiento de los juveniles de *P. ferruginea*, en otoño y en invierno-primavera, todos los individuos realizaron cambios de huella, si bien con una frecuencia diversa. Como casos extremos, el ejemplar nº 5 realizó un solo cambio de huella en más de 11 semanas de cultivo, mientras que los juveniles nº 11 y nº 19 realizaron 27 y 28 cambios, respectivamente.

En invierno se produjo el mayor número de cambios de huella, de manera que un 53,3 % de los juveniles efectuaron de 16 a 20 cambios. En primavera un 36,4 % de ejemplares cambiaron de huella de una a cinco veces y sólo un 9,1 % realizaron de 16 a 20 cambios. En otoño el comportamiento presenta características intermedias, de manera que un 35,7 % de juveniles cambiaron de huella de seis a diez veces y sin embargo un ejemplar realizó 27 cambios.

Los juveniles de *P. ferruginea* tienen preferencia por permanecer expuestos al aire durante las horas diurnas, de forma que en los tanques de cultivo se tiene que provocar la inmersión durante cortos periodos de tiempo, a modo de marea artificial. En el experimento del cambio de huella se observó que los juveniles tienen predilección por quedarse entre 41 y 60 mm sobre la superficie del agua (45,8%) y entre 61 y 80 mm (35,8%); pocos ejemplares se quedaron cerca de la salpicadura del agua (3,7%) o completamente sumergidos (3,2%) y muy pocos permanecieron sobre el borde del acuario (0,1%).

Se desconoce el motivo por el cual los juveniles de *P. ferruginea* tienen tendencia a cambiar de huella con tanta frecuencia en condiciones artificiales, ya que en el tanque de cultivo la cobertura algal es similar en toda su superficie. Algunos ejemplares se sitúan cerca de la aireación-burbujeo que produce

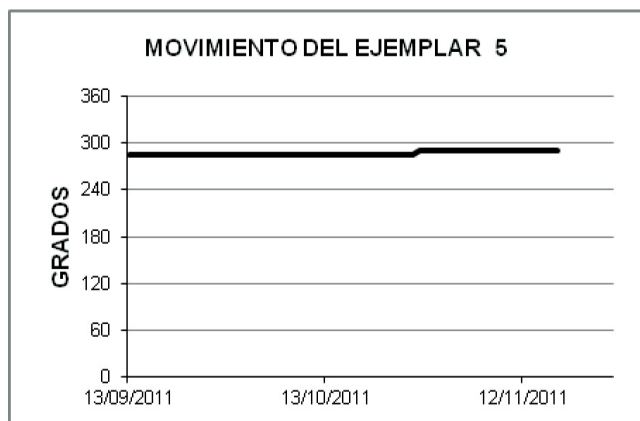


Figura 1: Movimientos de tipo I en el ejemplar nº 5.

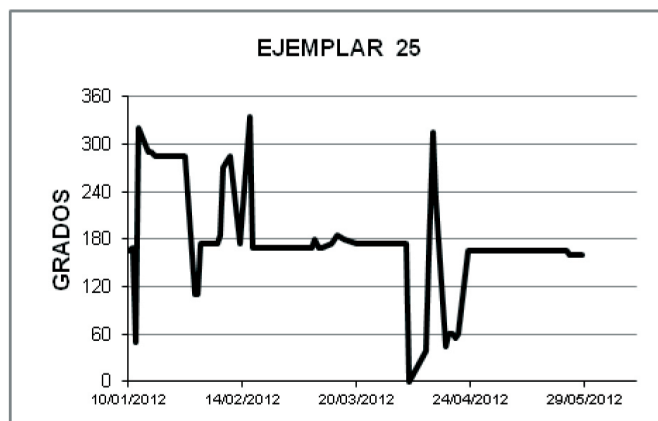


Figura 2: Movimientos de tipo II en el ejemplar nº 25.

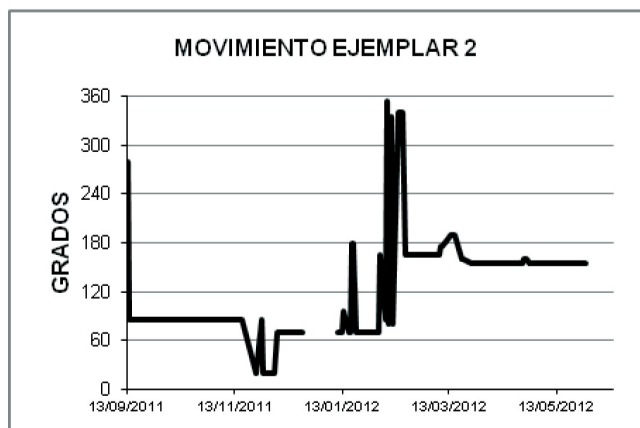


Figura 3: Movimientos de tipo III en el ejemplar nº 2.

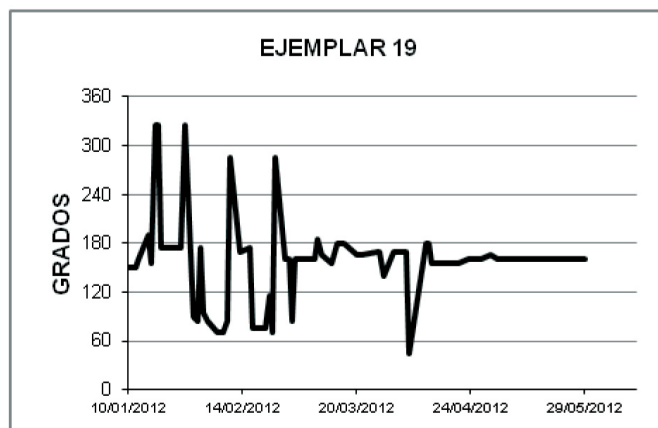


Figura 4: Movimientos de tipo IV en el ejemplar nº 19.

salpicaduras y otros parecen escoger colocarse bajo el grifo de la entrada de agua de mar, si bien en su mayoría se ubican en el extremo opuesto. Tampoco se ha observado una relación entre la zona de insolación y la mayor o menor presencia de juveniles.

## Referencias

Guallart, J. y Acevedo, I. 2006. Observaciones sobre la biología de la lapa *Patella ferruginea* (Mollusca, Patellidae) en las Islas Chafarinas. En: *IV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina, Barcelona*.

## Small-scale spatio-temporal variability of wild fish at a *Sparus aurata* farm

Kathrin Bacher<sup>a</sup>, Ana Gordo<sup>a</sup>, Oscar Sagué<sup>a</sup>

Fish farms are expanding worldwide constituting new artificial structures and feeding grounds for wild fish to aggregate. Previous work has investigated and compared fish aggregations at farms and more distant sampling locations; however, information on small-scale variability within farm complexes is very scant. Fish aggregation patterns within farms may vary substantially depending on (1) the type of bottom, (2) depth, (3) daytime (feeding versus non-feeding hours), and (4) distance from the feeding vessel. This study provides an integrated approach analysing these four factors combined at a Gilthead seabream (*Sparus aurata*) farm. Fish were counted on six days in July 2011 at three stations over rocky-sandy bottoms and three stations over sandy substrate. At each station counts were performed at 3 m, 10 m, and 20 m during feeding hours in the morning and non-feeding hours in the afternoon. As experience gathered from a previous study indicated the avoidance of certain species to scuba divers, fish counts were performed by means of free-diving. We observed 35 species in total belonging to 17 families. Overall, the number of species, abundance and biomass were significantly higher at rocky-sandy stations compared to sandy stations, mainly due to large differences between the bottom strata. Fish aggregations at different depths were influenced by distinct factors. At the bottom, the habitat of the bottom itself was the dominant factor explaining aggregation variability, daytime or the presence of the feeding vessel, having no significant influence. In contrast, at the surface and midwater strata we recorded significantly higher fish abundance and biomass whenever the feeding vessel was close. Fish abundance, biomass and species composition at feeding and non-feeding hours only differed at the surface. Our results showed a high variance in the patterns of fish aggregation within the studied farm, revealing a system of high complexity which has not been addressed in previous studies. The small-scale spatio-temporal variability within farms has direct implications for future study designs that aim at investigating wild fish aggregation patterns at farms.

<sup>a</sup>Centro de Estudios Avanzados de Blanes (CEAB-CSIC), 17300 Blanes, Spain ([kbacher@ceab.csic.es](mailto:kbacher@ceab.csic.es))

<sup>b</sup>Federació Catalana d'Activitats Subaquàtiques, 08930 Sant Adrià del Besòs, Spain

# Integrated Multitrophic Aquaculture: Filter Feeder Bivalves as Efficient Reducers of Wastes Derived from Coastal Aquaculture Assessed with Stable isotopes

Ariadna Tor<sup>a\*</sup>, Carme Alomar<sup>a</sup>, Salud Deudero<sup>a</sup>

## Introduction

The organic enrichment is recognized as the most important problem associated to open-water aquaculture as a direct result of the release of dissolved and particulate nutrient loads. Uneaten pellet and fresh food supplied at fish cages, together with the excretion products from cultured fishes are the source of the nutrient loads released (Cheshuk *et al.*, 2003). Whereas the dissolved compounds are easily dispersed and diluted in the water column, the particulate compounds sink to the sea floor, causing severe modifications of the physical and chemical characteristics of the sediment and the community dynamics of marine seagrass and benthic fauna (Karakassis *et al.*, 2000; Mente *et al.*, 2006). The effects have been widely studied in the Atlantic and the Pacific Ocean, specially in relation to the salmon industry, however knowledge of fish farming impacts in the oligotrophic waters of Mediterranean Sea is scarce (Vizzini & Mazzola, 2004). Integrated multitrophic aquaculture (IMTA) has emerged as a potential tool to mitigate the environmental impact of organic enrichment by integrating fish with low-trophic organisms (molluscs and/or algae) during farming through the recycling of particulate and dissolved compounds.

To decipher whether integrated multitrophic aquaculture is an effective method for minimizing and reducing waste inputs into the Mediterranean coastal ecosystem we have designed a multitrophic integrated system involving filter feeders bivalves *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) and *Mimachlamys varia* (Linnaeus, 1758), and fin fish *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). Through determination of carbon and nitrogen stable isotopes to the several organisms and trophic strategies, the following aims will be accomplished:

- i. Define the isotopic composition of the trophic food web of integrated multitrophic aquaculture in relation to two reference stations.
- ii. Study the temporal variability in waste matter fluxes at the different treatments, hence annual and seasonal variability.
- iii. Calculate the relative contributions of wastes (fresh food, pellets, plankton) to the fish farmed and to the filter feeders at the IMTA.

## Methods

The study was conducted from years 2008 and 2011 at a research experimental station (LIMIA), in Andratx Bay, on the SW coast of Mallorca. The installations included 6 floating cages with cultured *Argyrosomus regius*, with a total fish stock of 12-15 t year<sup>-1</sup>. Two reference sites were selected to evaluate the effects of aquaculture wastes in the adjacent environment, an external site (control 1) located approximately 350 m away from the fish cages within the Andratx Bay, and a second site (control 2) located 21 nautical miles away. Filter feeder bivalves *Mytilus galloprovincialis* and *Mimachlamys varia* were chosen for this study as they are native to the region, fast growing and commercially viable. They were collected from the harbour area in Andratx Bay between April and July 2007 and transferred to plastic bags which were placed hanging on fish cages, and the same amount was simultaneously attached to the rope buoys in control 1 and control 2.

In the experimental site (hereafter called cage site), approximately 10 adult specimens of *Argyrosomus regius*, and 6 samples of *Mytilus galloprovincialis* and *Mimachlamys varia* were sampled seasonally. Additionally, potential food sources derived from aquaculture wastes as fish faeces and pellet and fresh food were sampled; as well as the other components of the marine food web, phytoplankton, zooplankton, particulate organic matter (POM) and sedimentary organic matter (SOM). Moreover, 5 sedimentivorous echinoderms *Holothuria (panningothuria) forskalii* Delle Chiaje, 1823 were also collected. Similarly, in control sites 6 specimens of filter feeder bivalves *Mytilus galloprovincialis* and *Mimachlamys varia* were sampled. In control 1, *Mimachlamys varia* could not be sampled since the polyethylene bags were lost after severe storm periods. Moreover, phytoplankton, zooplankton, particulate organic matter (POM) and sedimentary organic matter (SOM) were sampled seasonally and 5 samples of sedimentivorous echinoderms *Holothuria (panningothuria) forskalii* were sampled annually following the same procedure as in cage site. All samples were frozen immediately after sampling and kept at -20°C till further processing.

Samples were dried in an oven at 60°C for 24h and subsequently grounded to a fine powder using a mortar and pestle. A minimum of two replicates for each sample was analyzed for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  isotopic signatures, except for commercial dry pellet feed which had a stable and controlled composition (Trouw S.A). SOM samples for  $\delta^{13}\text{C}$  isotopic analysis were acidified by adding 2N HCl, while for  $\delta^{15}\text{N}$  analysis, non-acidified replicates were used. From each sample  $2 \pm 0.1$  mg of dry weight was placed in tin cups to determine the stable isotope ratios of carbon and nitrogen.

<sup>a</sup> Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Baleares, Muelle de Poniente s/n, 07015, Palma (\*email: [ariadna.tor@ba.ieo.es](mailto:ariadna.tor@ba.ieo.es))

The analyses were run at the SCTI (Scientific-Technical Services) from the Balearic Islands' University using a continuous flow mass spectrometer (Thermo Finnegan Delta x-plus). The analytical precision of the stable isotope analyses was based on the standard deviation of the BSL samples, which were 0.08 ‰ for  $\delta^{13}\text{C}$  and 0.09 ‰ for  $\delta^{15}\text{N}$ . Isotope ratios were expressed in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ , with units of ‰, according to the following equation:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{15}\text{N} = \left[ \left( \frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{reference}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

where R is the corresponding  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  or  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ratio.

Distance based permutation analysis of variance (PERMANOVA) was applied to test the hypothesis that there were no differences in the isotopic signature ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of filter feeders bivalves between treatments (cage, control 1 and control 2) and sampling periods (years: 2008, 2009, 2010 and 2011; and season: spring, summer and autumn). All statistical computations were performed using the statistical package PRIMER® 6.0 PERMANOVA software. The analysis was not performed on  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  sediment data because, as a consequence of the low carbon and nitrogen content in the samples, some replicates did not reach the mass requirements and could not be analyzed in the mass spectrometer.

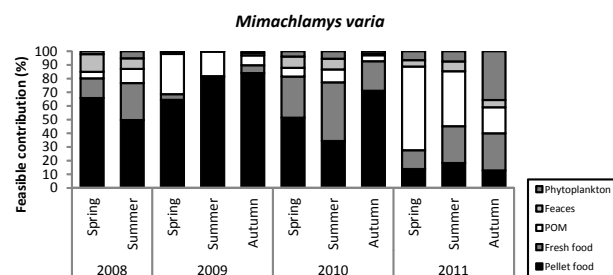
SISUS Bayesian Mixing model (Stable Isotope Sourcing using Sampling) was applied to quantify the feasible contributions of the potential organic matter sources (phytoplankton, zooplankton, POM, faecal material, pellet and fresh food) to the filter feeders bivalves' diet, based on the analyzed stable isotope ratios. A discrimination of 0.3 ‰ for carbon was assumed for POM and filter feeders bivalves while for muscle samples of *A. regius* a 1.3 ‰ was applied. For nitrogen, a correction of 2.3 ‰ per trophic level was applied (McCutchan *et al.*, 2003).

## Results

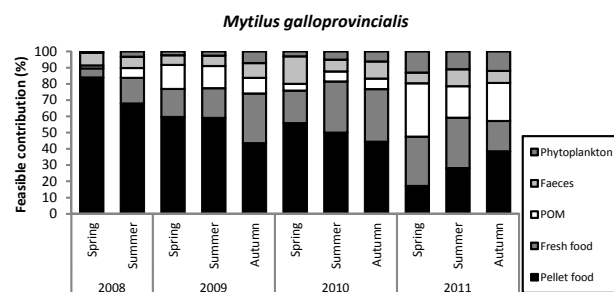
$\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values were determined for the food web components in the four years of study in cage and control sites. Filter feeders bivalves from cage site exhibited isotopic values, ranging from -18.52 ‰ to -21.50 ‰ for  $^{13}\text{C}$  and 5.85 ‰ to 8.47 ‰ for  $^{15}\text{N}$  in *M. galloprovincialis*, and between -22.34 ‰ to -17.69 ‰ for  $^{13}\text{C}$  and 5.70 ‰ to 9.38 ‰ for  $^{15}\text{N}$  in *M. varia*. Statistical analyses showed significant differences between cage and control treatments and seasons in the four years of study for  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  in *M. varia* while *M. galloprovincialis* showed significant differences between treatments, season and year for  $^{13}\text{C}$  and between treatments and seasons for  $^{15}\text{N}$ . (PERMANOVA,  $p < 0.05$ ). *M. galloprovincialis* from cage site showed an enrichment of 0.11 ‰ in  $^{13}\text{C}$  and 1.33 ‰ in  $^{15}\text{N}$  compared to bivalves from control 1; greatest differences were found when comparing cage site with control 2, with an enrichment of 1.44 ‰ in  $^{13}\text{C}$  and 3.07 ‰ in  $^{15}\text{N}$  ( $p < 0.05$ ). Regarding *M. varia* from cage site, mean values for  $^{13}\text{C}$  were  $-19.80 \pm 0.44$  ‰ and  $7.47 \pm 0.70$  ‰ for  $^{15}\text{N}$ , showing an enrichment of 0.32 ‰ and 1.74 ‰ in  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$ , respectively, compared to control 2 ( $p < 0.05$ ).

According to the bayesian mixing model, the main food source for the fish *A. regius* was pellet food, with a mean global contribution of 72.35 %, while the remaining 27.65 %

corresponded to fresh food. Although contributions varied annually pellet food always represented the main food source. Pellet food represented an important food source for *M. varia*, with a mean contribution of up to 62.68 % of their isotopic composition in the first three years of study, followed by fresh food, POM, fish faeces and phytoplankton (18.28 %, 11.26%, 5.18 % and 2.58 %, respectively). In 2011, the pattern changed and POM represented the main food source with a mean contribution of 50.74 %. As in *A. regius*, contributions varied both seasonally and annually (Figure 1), however, aquaculture derived products (pellet and fresh food and fish faeces) remained the main food sources along the three first years of study varying from 70.03 % in spring 2009 to the maximum of 93.81 % in autumn 2010. Similarly, pellet food represented the main food source for *M. galloprovincialis*, with a mean contribution of 57.95 %, followed by fresh food (21.46 %), fish faeces (8.90 %), POM (7.84 %) and phytoplankton (3.83 %) during the first three years (Figure 2). Again, in 2011, the trend changed as pellet food decreased to a global mean contribution of 27.78 %, and POM contribution increased to a global mean of 23.44 %. *M. galloprovincialis* also showed a seasonal and annual variation, but again aquaculture derived products remained the main food sources in the four years of study, with mean values varying from 97.31 % in spring 2008 to 53.98 % in spring 2011.



**Figure 1.** Seasonal and annual variability of the feasible contribution of the main organic matter sources to the diet of *Mimachlamys varia* cultured in fish cages based on Bayesian mixing models.



**Figure 2.** Seasonal and annual variability of the feasible contribution of the main organic matter sources to the diet of *Mytilus galloprovincialis* cultured in fish cages calculated by Bayesian mixing models.

## Discussion

The analysis of the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of the food web components at each treatment (cage and control sites) depicted different matter fluxes, especially in relation to the nitrogen isotope.  $^{15}\text{N}$  is usually used as a viable indicator of the trophic position since it increases amongs trophic level; therefore, organisms placed higher in the trophic web are expected to present higher  $^{15}\text{N}$  values. Accordingly, *A. regius* showed higher mean  $\delta^{15}\text{N}$  values than the other food web components. Analysing bivalves from cage site we observed that their  $^{15}\text{N}$  signature was relatively similar to those of phytoplankton, zooplankton, fresh food, fish faeces and benthic sedimentivorous, demonstrating that filter feeder worked efficiently by getting their nitrogen isotopic signature from the filtered substances. A similar pattern was observed in both control sites. Moreover, the enrichment in  $^{15}\text{N}$  exhibited by *H. forskalii* in cage site is derived by the incorporation of part of aquaculture wastes that sink into the seafloor as it has been observed by other authors, as Dolenc *et al.* (2007). Even though it has been demonstrated that filter feeder assimilate part of aquaculture wastes, there is still a fraction which accumulates in the sediment potentially affecting the sediment and benthic organisms. Higher  $\delta^{13}\text{C}$  values for *M. galloprovincialis* and *M. varia* exhibited in the cage site compared to control sites are probably linked to the higher water residence time in the inner bay where fish farm is deployed, while control sites are at open areas.

The existing annual variability of the feasible contribution of pellet and fresh food to *A. regius*' diet is attributed to the nutritional regime instead of a possible change in the intake nutrient strategy. Particularly important are the mixing model analysis in both bivalves, as it strongly demonstrates a contribution of aquaculture wastes in both bivalves' diet. The observed seasonal variations may be attributed to phytoplankton dynamics. Despite pellet food had a very important contribution in both bivalves' diet, we observed some different patterns. For both species, the contribution seemed to be complementary, in that sense, when one specie increased the feasible contribution of pellet food, the other specie exhibited a decrease in that contribution and vice versa. This could be interpreted as a competitive strategy between both species, possibly due to the limitation of water income and nutrients for being placed in the same bags.

The study is based on an approach of integrated multitrophic aquaculture to minimize the impact of aquaculture activities to the marine food web and benthic communities through stable isotope signatures of cultured fin fish, filter feeder bivalves, aquaculture derived products, particulate and sedimentary organic matter at the proximity of cages. The results clearly demonstrates that both

bivalves are assimilating aquaculture derived wastes efficiently, especially *M. galloprovincialis*, supporting the idea that the co culture of species with different trophic strategies (fish and molluscs) guarantee a good environmental status by improving water quality in fish farms. Additionally, the incorporation of filter feeders in aquaculture installations work in line with the European water framework directive 2000/60/CE which objectives are to guarantee and maintain a good quantitative and qualitative state of water bodies, including marine waters up to one nautical mile from shore.

## Acknowledgements

This work was financially supported by the JACUMAR project (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). The authors thank several people involved in samples processing such as F. Fuster, S. Sardu and M. Ceglia. Special thanks for collaboration in stable isotope analyses offered by the SCTI (Scientific-Technical Services) from the Balearic Island's University and B. Martorell. We appreciate the collaboration of the staff members of the marine protected area of S'Arenal. Thanks to Elvira Álvarez for helping in the sampling tasks and Marga Obrador for the maps making.

## References

- Cheshuk, B.W.; Purser, G.J. & Quintana, R. (2003). Integrated open-water mussel (*Mytilus planulatus*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) culture in Tasmania, Australia. *Aquaculture*, Vol. 218, No. 1-4, (March 2003), pp. 257-378, 00448486 DeNiro, M. J. & Samuel, E. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 42, No. 5 (May 1978), pp. 495-506
- Dolenc, T.; Lojen, S.; Kniewald, G.; Dolenc, M. & Rogan, N. (2007). Nitrogen stable isotope composition as a tracer of fish farming in invertebrates *Aplysina aerophoba*, *Balanus perforatus* and *Anemonia sulcata* in central Adriatic. *Aquaculture*, Vol. 262, No. 2-4, (February 2007), pp. 237-249, 00448486
- Karakassis, I. & Hatziyanni, E. (2000). Benthic disturbance due to fish farming analyzed under different levels of taxonomic resolution. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 203, (September 2000), pp. 247-253, 01718630
- McCutchan, J.H.; Lewis, W. M.; Kendall, C. & McGrath, C. C. (2003). Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, Vol. 102, No. 2 (August 2003), pp. 378-90, 00301299
- Mente, E.; Pierce, G. J.; Santos, M. B. & Neofitou, C. (2006). Effect of feed and feeding in the culture of salmonids on the marine aquatic environment: A synthesis for European aquaculture. *Aquaculture International*, Vol. 14, No. 5 (October 2006), 499-522, 09676120
- Vizzini, S. & Mazzola, A. (2004). Stable isotope evidence for the environmental impact of a land-based fish farm in the western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 49, No. 1-2, (July 2004), pp. 61-70, 0025326X



## *Aggregata octopiana* (Protozoa: Apicomplexa) distribution in West Mediterranean Sea

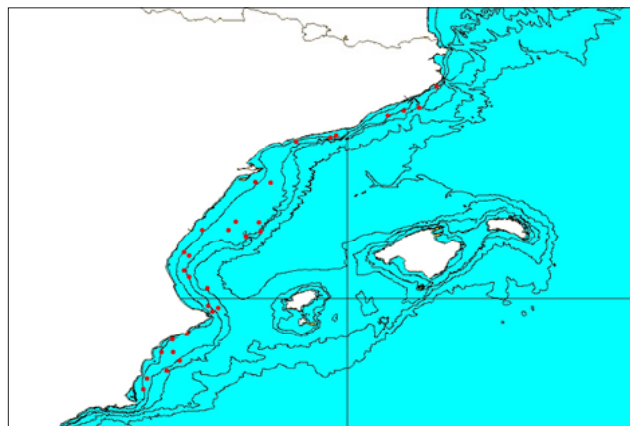
Elvira Mayo-Hernández<sup>a,d\*</sup>, Elena Barcala<sup>b,d</sup>, Eduardo Berriatua<sup>a,d</sup>, Alfonsa García-Ayala<sup>c,d</sup>, Pilar Muñoz<sup>a,d</sup>

The common octopus, *Octopus vulgaris* Cuvier 1797, is the most fished octopus species in the world. While worldwide the greatest octopus fishery takes place in the Saharan Bank (off the Northwest coast of Africa), other larger fisheries exist along the European Atlantic coast and the Mediterranean Sea, as well as in the waters of Japan and Venezuela (Guerra, 1997). In the Spanish Mediterranean, *O. vulgaris* is the most landed cephalopod species, averaging around 4000 tons per year between 2000 and 2010. They are mainly fished by trawlers, but also captured by clay pots, trammel nets and other fishing gears (Tsangridis *et al* 2002). In the Mediterranean Sea the species showed a narrow depth distribution, mostly restricted within 100 m; below 200 m, catches are scarce and at further depths, occasional (Belcari *et al* 2002). As other cephalopods, the common octopus plays an important role in the food webs of marine ecosystems. Despite their importance both in marine trophic ecology and fisheries, little is known about the protozoan diseases that occur in natural populations.

The coccidian genus *Aggregata* (Protozoa: Apicomplexa) is an intracellular parasite with a two-host life cycle transmitted through the food-web. Gamogony and sporogony occur in the digestive tracts of a wide diversity of cephalopods, the definitive host, whereas merogony occurs in the digestive tract of crustaceans, the intermediate host (Levine 1988). Infection by parasites of this genus has been considered as the most important infectious agent in wild and cultured cephalopod stocks from Spanish Atlantic waters (Estévez *et al* 1996), being responsible for a malaabsorption syndrome (Gestal *et al* 2002a) making it more vulnerable to other biotic and abiotic stressors (Gestal *et al* 2007). Coccidian infection has also been reported in *O. vulgaris* from Mediterranean Sea (Licciardo *et al* 2005, Peñalver *et al* 2008) although data from prevalence and distribution on this environment is scarce. The aim of this work was to study the prevalence and distribution of *A. octopiana* in common octopus from the Mediterranean Spanish coasts.

This study was carried out within the framework of the Mediterranean International Trawl Survey (MEDITS) conducted on May 2011. A total of 113 *Octopus vulgaris* were sampled from 31 geographic sectors (Fig. 1) by trawl fleet, between 36 and 158 m depth. The following parameters were obtained: dorsal

mantle length to the nearest mm, body weight to the nearest 0.1 g, body condition, sex and maturity stage. Body condition was calculated according to Fulton's condition index (K)  $K = BW / DML^3 \times 100$  (Ricker, 1975). Maturity stage was established according to the three-stage maturity scale described by Sánchez & Obarti (1993) being (I) immature (ovary: whitish, very small and with no signs of granulation in females; spermatophoric organ transparent or whitish in males); (II) maturing (ovary: yellowish with a granular structure; spermatophoric organ with white streaks of sperm); and (III) mature (ovary: very large with plenty of eggs; spermatophoric sac with spermatophores). Mesenteries of digestive gland and gonad, gills and mantle musculature were macroscopically observed in order to detect extra-intestinal whitish oocysts. Digestive tract was dissected and stored at -20°C. Once thawed at the laboratory, digestive tracts were examined for parasite detection. To obtain the levels of infection, the presence of whitish oocysts in the esophagus, crop, digestive gland, caecum and intestine was semiquantitatively evaluated on a 6-degree scale with grade 0 corresponding to absence of oocysts and grade 6 to heavy infection.



**Figure 1.** Map of the studied area (Northwest Mediterranean) showing the position of each geographic sectors.

Chi-squared test and non-parametric ANOVA were used to compare the proportion of infected octopuses and the intensity of infection among those infected, respectively, according to sex, weight, size, body condition as well as depth, longitude and latitude of the geographical sector of capture using a 5% significance level for a double-sided test. Logistic and linear regression modelling were then used to investigate the relationship between presence/absence and intensity of infection and explanatory variables

<sup>a</sup> Departamento de Sanidad Animal, Universidad de Murcia (email: pilarmun@um.es)

<sup>b</sup> Instituto Oceanográfico Español-San Pedro del Pinatar, Murcia

<sup>c</sup> Departamento de Biología Celular, Universidad de Murcia

<sup>d</sup> Campus de Excelencia Internacional Regional "Campus Mare Nostrum"

significantly associated with the outcome in the univariate analysis.

The weight of the sampled octopus ranged between 117 and 6700 g (average  $883 \pm 746$ g), the size between 5.2 and 21.5 cm (average  $10.6 \pm 3$ ). The highest percentage of infection was found in intestine (92 %) and spiral caecum (81 %) while lighter infections were observed in crop (45 %), oesophagus (24 %) and digestive gland (8%) ( $p < 0.05$ ). Despite the caecum being considered the preferred site of infection (Estévez *et al* 1996), our results showed higher prevalence of infection in the intestine of sampled cephalopods. No extra-intestinal whitish oocysts were detected.

Univariate analysis indicated that females predominated in shallow waters and males were more abundant in deeper depths maybe because the females had moved to shallower zones of spawning as it has been previously described (Mangold-Wirz 1963, González *et al* 2011). Moreover, the risk of infection was greater for octopuses living in depths  $>80$ m ( $p=0.0075$ ) than those in shallower waters, for those in western compared to those in eastern longitudes ( $p=0.0260$ ) and for males compared to females ( $p=0.020$ ). However, in the logistic model the risk of infection was only marginally greater in males compared to females ( $p=0.0576$ ) and in animals captured at  $>80$  m than those at  $<80$ m ( $p=0.064$ ). Linear regression models showed that infection intensity was similarly associated to depths  $>80$ m ( $p=0.015$ ) and was greater among maturing than immature octopuses ( $p=0.0306$ ). Although *A. octopiana* has been reported to lead to poorer condition (Gestal *et al* 2007), this was not detected in the present work.

Observed gender and maturation stage differences could be due to their feeding ecology; male and female octopuses have a similar diet (Guerra 1978, Sánchez & Obarti 1993). However, *O. vulgaris* may change their feeding behavior when they mature and reproduce (González *et al* 2011, Wodinsky 1978) and increased feeding among mature males captured in deep waters could lead to a greater risk of infection in this group compared to fasting spawning females in shallow waters. Alternatively, differences in the risk of infection could be related to *A. octopiana* intermediate host (IH) distribution. Presently, *Palaemon elegans* is the only recognized IH for this parasite and they are generally more abundant in the lower intertidal zone to the infralittoral zone (40 m depth) (Gonzalez-Ortegón & Cuesta 2006). Although octopuses sampled in this work may have become infected while feeding in coastal areas, previously to its migration at higher depths, detected differences could be due to the presence of others intermediate hosts at higher depths. Various crustaceans from wild populations of European waters have been found to contain merogonic stages of coccidians that are believed to be species of *Aggregata* (Gestal 2002b). Further studies should be conducted to prove these hypotheses.

## References

- Arias C, Gestal C, Rodríguez H, Soto M, Estévez J (1998) *Palaemon elegans*, an intermediate host in the life-cycle of *Aggregata octopiana*. *Diseases of Aquatic Organisms* 32: 75-78.
- Belcari P, Cuccu D, González M, Srairi A, Vidoris P (2002) Distribution and abundance of *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Cephalopoda: Octopoda) in the Mediterranean Sea. *Scientia Marina* 66: 157-166.
- Estévez J, Pascual S, Gestal C, Soto M, Rodríguez H, Arias C (1996) *Aggregata octopiana* (Apicomplexa: Aggregatidae) from *Octopus vulgaris* off NW Spain. *Diseases of Aquatic Organisms* 27: 227-231.
- Gestal C, Páez de la Cadena M, Pascual S (2002a) Malabsorption syndrome observed in the common octopus *Octopus vulgaris* infected with *Aggregata octopiana* (Protista: Apicomplexa). *Diseases of Aquatic Organisms* 51: 61-65.
- Gestal C, Angel Guerra A, Pascual S, Azevedo C (2002b) On the lifecycle of *Aggregata eberthi* and observations on *Aggregata octopiana* (Apicomplexa, Aggregatidae) from Galicia (NE Atlantic) *European Journal of Protistology* 37(4): 427-435.
- Gestal C, Pascual S, Guerra A (2007) *Aggregata octopiana* (Protista: Apicomplexa): a dangerous pathogen during commercial *Octopus vulgaris* on-growing. *ICES Journal of Marine Science* 64: 1743-1748.
- González M, Barcala E, Pérez-Gil JL, Carrasco MN, García-Martínez MC (2011) Fisheries and reproductive biology of *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda) in the Gulf of Alicante (Northwestern Mediterranean) *Mediterranean Marine Science* 12(2): 369-389.
- González-Ortegón E, Cuesta JA (2006) An illustrated key to species of *Palaemon* and *Palaemonetes* (Crustacea: Decapoda: Caridea) from European waters, including the alien species *Palaemon macrodactylus*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 86 (1): 96-102.
- Guerra A (1978) Sobre la alimentación y el comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Investigación Pesquera* 42: 351-364.
- Guerra A (1997) *Octopus vulgaris*: Review of the World fishery. p. 91-97. In: Lang, M.A. & Hochberg, F.G. (Eds), *Proceedings of the Workshop on the Fishery and Market Potential of Octopus in California*. Smithsonian Institution, Washington, DC.
- Levine ND (1988) The protozoan Phylum Apicomplexa. Vol. I. Boca Raton: CRC Press, 203 pp.
- Licciardo G, Garziano A, Nocera G, Gaglio G, Marino F, De Vico G (2005) *Contributo alla conoscenza dell'azione patogena di Aggregata octopiana* (Apicomplexa: Aggregatidae) in *Octopus vulgaris* nel sud del Mar Tirreno. *Ittiopatologia* 2: 193-198.
- Mangold-Wirz K (1963) Biologie des Céphalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. *Vie et Milieu* 13: 1-285.
- Peñalver J, MaríaDolores E, Muñoz P, Cerezo J, García B, Viuda E (2008) Valoración sobre la presencia y el control sanitario del coccidio *Aggregata octopiana* en pulpo común procedente de acuicultura. *Anales de Veterinaria* 24: 57-62.
- Ricker, WE (1975) Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin Fisheries Research Board of Canada*, 191: 1-382.
- Sánchez P, Obarti R (1993) The biology and fishery of *Octopus vulgaris* caught with clay pots on the Spanish Mediterranean coast. p. 477-487. In: *Recent advances in cephalopod fisheries biology: contributed papers to 1991 CIAC International Symposium and proceedings of the Workshop on Age, Growth and Population Structure*.
- Tsangridis A, Sánchez P, Ioannidou D (2002) Exploitation patterns of *Octopus vulgaris* in two Mediterranean areas. *Scientia Marina* 66 (1): 59-68.
- Wodinsky J (1978) Feeding behaviour of broody female *Octopus vulgaris*. *Animal Behaviour* 26 (3): 803-813.

# *Cibicidoides lobatulus* (Walker & Jacob, 1798) (Protozoa: Foraminifera) vive sobre *Porcellana platycheles* (Pennant, 1777) (Crustacea: Decapoda), ¿ectoparásito o simplemente epibionte?

C. Besteiro<sup>a,b</sup>, M.J. Serviá<sup>d</sup>, R. Vieira<sup>c</sup>, G. Díaz-Agras<sup>b</sup> & F. Cobo<sup>a,c</sup>

La capacidad de los foraminíferos en general y de *Cibicidoides lobatulus* en particular para establecer relaciones de epibiosis es bien conocida. Recientemente RODRÍGUEZ GREGORI (2007) estudió con detalle la presencia y distribución de *C. lobatulus* sobre el crustáceo decápodo *Porcellana platycheles*, estableciendo que el porcentaje de machos infestados fue mayor que el de hembras, y el de hembras ovígeras mayor que el de hembras no ovígeras. Por otra parte, observó una mayor prevalencia de la presencia de foraminíferos sobre individuos de mayor tamaño, aunque esto no se traduce en la presencia de un mayor número de epibiontes. Asimismo, la presencia de *C. lobatulus* no supone una fuente de estrés para *P. platycheles*, ni siquiera en las estaciones más contaminadas por el fuel procedente de los vertidos del petrolero *Prestige*, acaecidos en noviembre de 2003. A pesar de la intensidad de estos trabajos, quedó pendiente una cuestión: ¿qué tipo de relación se establece entre los dos individuos?, es decir, ¿es *C. lobatulus* un parásito externo de *P. platycheles* o se trata, simplemente, de un organismo epibionte?

El presente trabajo define la relación que establece el epibionte *C. lobatulus* sobre uno de sus basibiontes conocidos, el crustáceo decápodo *Porcellana platycheles*. Para ello, estudiamos detalladamente una selección de individuos de *P. platycheles* al microscopio electrónico de barrido, en dos fases sucesivas: con el foraminífero asentado sobre ellos y, a continuación, extrayendo el foraminífero y observando de nuevo (al SEM) la superficie afectada. Los ejemplares se metalizaron en ambas fases, con el foraminífero y una vez extraído éste. Hemos estudiado diferentes superficies de *Porcellana* (caparazón dorsal, apéndices locomotores, antenas), a diferentes aumentos, comprendidos entre 50x y 1000x.

Tal como puede observarse en las fotos 1 y 2, el foraminífero parece producir una excavación o, mejor, una ligera oquedad en la epicutícula, por desgaste por el rozamiento del foraminífero al moverse más o menos. Puesto que no se producen mayores deformaciones sobre la superficie del crustáceo ni hemos observado orificios de ningún tipo, parece claro que la relación establecida entre ambos organismos es una epibiosis.

<sup>a</sup> Departamento de Zooloxía e Antropoloxía Física, Universidade de Santiago de Compostela. (email: [celia.besteiro@usc.es](mailto:celia.besteiro@usc.es))

<sup>b</sup> Estación de Bioloxía Mariña da Graña, A Graña (Ferrol), Universidade de Santiago de Compostela

<sup>c</sup> Estación de Hidrobioloxía "Encoro do Con", Castroagudín (Vilagarcía da Arousa), Universidade de Santiago de Compostela

<sup>d</sup> Departamento de Bioloxía Animal, Bioloxía Vexetal e Ecoloxía, Universidade da Coruña

## References

Rodríguez Gregori, M., 2007, *La respuesta morfológica de Porcellana platycheles (Pennant, 1777) (Crustacea, Decapoda) al estrés ambiental. Nuevos datos sobre su biología en las costas de Galicia*, Memoria de Licenciatura, Universidad de Santiago de Compostela, 305 p.

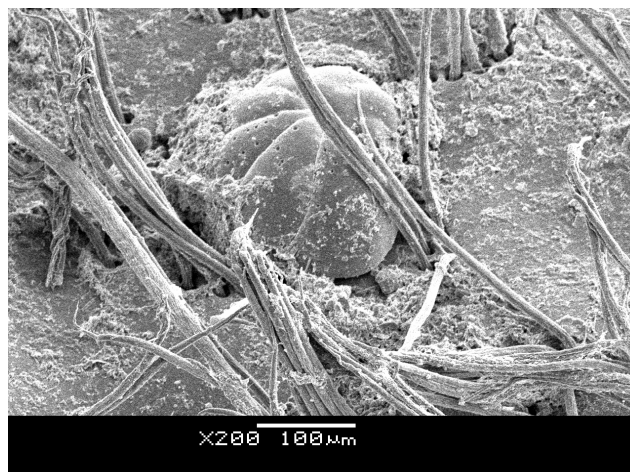


Figura 1. Superficie dorsal de un ejemplar de *Porcellana platycheles* con *Cibicidoides lobatulus*



Figura 2. Superficie dorsal de un ejemplar de *Porcellana platycheles*. La misma zona, una vez extraído el foraminífero.

# Microbiome shift rather than a single pathogen is responsible for a disease of the Mediterranean sponge *Ircinia fasciculata*.

Andrea Blanquer <sup>a,b</sup>, Maria-J Uriz <sup>c</sup>, Emma Cebrian <sup>c</sup>, Pierre E Galand <sup>a,b</sup>

*Ircinia fasciculata* (Pallas 1766) is an abundant Mediterranean species that has been reported to suffer from extensive die-offs in Mediterranean shallow waters during 2008 and 2009 summers (Cebrian *et al.* 2011). Mortality affected up to 95% of individuals from marine protected areas in the western Mediterranean, and 100% of the individuals in the studied populations resulted injured. There has been a general failure to identify the causative agents of sponge diseases. In fact, there is a growing theory postulating that, in the marine realm, diseases are opportunistic polymicrobial infections that occur after some stressing perturbation rather than infection by a single primary pathogen. We applied tag-pyrosequencing methodologies to unravel differences in bacterial communities associated to healthy and diseased *Ircinia fasciculata* and to their surrounding seawater in order to confirm or falsify the theory. Bacterial assemblages from healthy and diseased individuals, and from surrounding seawater were quantitatively and qualitatively different from each other. Diseased samples showed higher bacterial diversity than healthy samples. Some bacterial OTUs were only present in healthy samples. A 50% of them were phototrophic bacteria (whether Cyanobacteria or Chloroflexi), and no one had previously been associated to any disease or sponges from aquaculture systems, which has also been reported to cause a great shift in sponge-associated bacterial communities. On the other hand, some bacterial OTUs were only detected in diseased organisms. Cyanobacteria and Chloroflexi representatives were taxonomically different in diseased and healthy sponges and less abundant in the former. Proteobacteria (i.e. heterotrophic bacteria), mostly Alphaproteobacteria, dominated in diseased samples (50%). A 16% of the bacteria only present in diseased samples were associated to coral or sponge diseases, and 12% to aquacultured sponges. Most bacteria found in healthy samples had been previously reported from other *Ircinia* samples (50%). This proportion fell to 20% in diseased samples. The shift in bacterial assemblages found between healthy and diseased sponges supports the hypothesis of polymicrobial infection. The increase in bacterial diversity in diseased samples is probably due to defense weakness and the appearance of new niches to degrade the sponge tissue.

## References

- Cebrian E, Uriz MJ, Garrabou J, Ballesteros E (2011) Sponge Mass Mortalities in a Warming Mediterranean Sea: Are Cyanobacteria-Harboring Species Worse Off? PLoS ONE 6(6): e20211

<sup>a</sup> UPMC Université Paris 06, Observatoire Océanologique, F-66650, Banyuls/Mer, France ([andrea@ceab.csic.es](mailto:andrea@ceab.csic.es))

<sup>b</sup> CNRS, FRE 3350, Laboratoire d'Écogéochimie des Environnements Benthiques (LECOB), Observatoire Océanologique, F-66650, Banyuls/ Mer, France

<sup>c</sup> Centre d'Estudis Avançats de Blanes CEAB-CSIC, aces cala St Francesc 14 17300 Blanes, Girona

## Descripción de parásitos en crustáceos decápodos del género *Plesionika* sp. Bate 1888.

David Corta Diego<sup>a</sup>

Museo Marítimo del Cantábrico, perteneciente a la Consejería en materia de Cultura del Gobierno de Cantabria, viene colaborando desde 1983 en las campañas oceanográficas organizadas por el Instituto Español de Oceanografía en aguas de la costa norte española.

Durante la campaña de 2010 se obtuvieron varios ejemplares del crustáceo decápodo *Plesionika heterocarpus* (Costa, A., 1871) parasitados por 2 especies diferentes de crustáceos isópodos. Uno de ellos, perteneciente a la familia *Bopyridae*, *Pseudione affinis* (G. O. Sars, 1882), parasitando el interior del cefalotórax, y el otro perteneciente a la familia *Dajidae*, *Zonophryxus dodecapus* Holthuis, 1949, parasitando la zona externa dorsal posterior del cefalotórax. Al proceder a la clasificación taxonómica de los parásitos se constata la escasa información bibliográfica sobre los mismos, sobretodo en el caso de la especie *Z. dodecapus* Holthuis 1949, descrita en 1949 en aguas de Tenerife y considerada un endemismo macaronésico (J. Castello y J. Junio, 2007), esta especie se cita parasitando a un nuevo hospedador, *P. heterocarpus* el cual es parasitado al mismo tiempo por *P. affinis*, en aguas de la costa gallega, confirmando junto a otros artículos (Danforth, C.G., 1976) que no se trata de un endemismo. En el caso de *P. affinis* si se ha citado parasitando *P. heterocarpus* pero nunca en aguas del norte de España y tampoco parasitando conjuntamente junto a *Z. dodecapus*.

Dada la relevancia de estos ejemplares se ha revisado la colección de ejemplares de *Plesionika* procedentes de las campañas oceanográficas, encontrándose 17 ejemplares de *Z. dodecapus* parasitando *P. heterocarpus* provenientes de las campañas de 1992, 2000 y 2010, y de diferentes caladeros que van desde el cabo de Ajo a la desembocadura del Miño. Para estos parásitos en algún caso se conserva el hospedador al que estaban parasitando. Estos parásitos son hembras que en algún caso conservan la puesta y el macho correspondiente entre los oosteguitos.

En el caso de *P. affinis*, se obtuvieron 5 ejemplares, uno de ellos parasitando a *Plesionika martia* (A. Milne-Edwards, 1883) durante la campaña de 1992 en aguas del Cantábrico. Todos estos parásitos son hembras que se alojan indistintamente tanto en el costado derecho como izquierdo del cefalotórax del hospedador, todas conservan la puesta en el marsupio, y a excepción de un ejemplar, también conservan al macho entre los pleómeros.

El material ha sido examinado con una lupa binocular "Optika mod. SMZ-1" y fotografiados con una cámara Nikon D50 con un objetivo Nikon 18-55 mm.

La cantidad de ejemplares de *Z. dodecapus* encontrados ha permitido una descripción pormenorizada de su morfología con abundante material gráfico, pudiéndose constatar la ligeras diferencias entre hembras con puesta y hembras inmaduras (Fig. 1) en las suturas torácicas y en la dentición ventrolateral la cual se puede asegurar que se corresponde a la suturas de los pleómeros fusionados. También se ha realizado una descripción morfológica con documentos gráficos de el macho de esta especie (Fig. 1).



**Figura 1.** Vista ventral de *Z. dodecapus* hembra (izquierda) y dorsal y ventral de *Z. dodecapus* macho (derecha).

En el caso de *P. affinis*, si que existen mayor número de citas con descripciones de su morfología, aún así se realiza una nueva descripción porque se describe el desplazamiento del eje de simetría bilateral del cuerpo de la hembra según parasite un costado u otro del hospedador (Fig. 2). La presencia del macho en los pleópodos (Fig. 2) de estas hembras también ha permitido realizar su descripción morfológica y su documentación gráfica (Fig. 3)



**Figura 2.** Diferencias de simetría bilateral de *P. affinis* en vista dorsal (derecha) y vista ventral (izquierda), en esta última se observa también la posición del macho entre los pleópodos de la hembra.

<sup>a</sup>Becario del Gobierno de Cantabria ([dcorta@gmail.com](mailto:dcorta@gmail.com))



**Figura 3.** Macho de *P. affinis* en vista dorsal (derecha) y vista ventral (izquierda).

Dentro del género *Zonophryxus* solo se han descrito 2 especies en aguas de la península ibérica e islas adyacentes, *Zonophryxus grimaldii* Koehler cuya descripción se realiza sobre una hembra inmadura en aguas del golfo de Cádiz, y *Z. dodecapus* Holthuis, 1949 en aguas de las Islas Canarias. Los ejemplares objeto de estudio se han identificado como esta última especie por la particularidad de ser la única dentro del género que conserva el sexto par de pereopodos en la hembra adulta madura. Esta especie esta considerada como endemismo macaronésico según el “Catálogo de las especies de isópodos marinos de los archipiélagos macaronésicos” (J. Castello y J. Junoy, 2007) debido a la cita de Holthuis de 1949, en la que es descrita parasitando a *Plesionika narval* (Fabricius, J.C., 1787), aunque con anterioridad a este catálogo ha sido citada por Charles G. Danforth en 1976 parasitando a *Heterocarpus ensifer* A. Milne-Edwards, 1881, en aguas de la Isla de Guam. Esto indica la amplia distribución de esta especie desde aguas tropicales hasta las aguas del atlántico en la costa gallega y el mar cantábrico. También indica que puede parasitar diferentes tipos de hospedador.

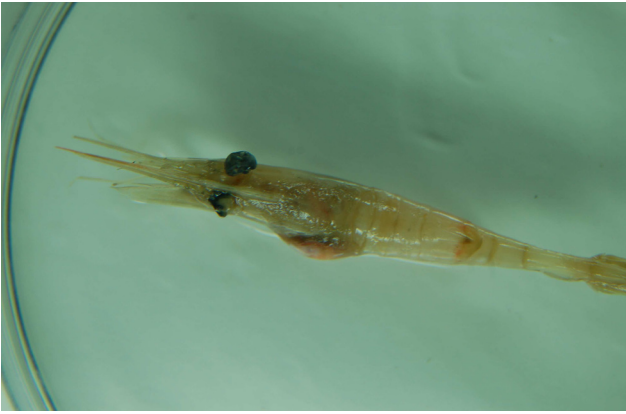
Aunque de ninguna especie de *Zonophryxus* se ha descrito su ciclo biológico completo, la aparición de *Z. dodecapus* junto a *Pseudione affinis* (Fig. 4) perteneciente a la familia *Bopyridae*, dentro de la cual si se han descrito los ciclos biológicos los cuales indican un hospedador intermedio que es un copépodo, podría indicar que las especies del género *Zonophryxus* también podrían implicar un hospedador intermedio que podría ser un copépodo, la diferencia podría establecerse en el momento del ciclo biológico del hospedador en el cual es parasitado. En el caso de la familia *Bopyridae*, la infección se realiza sobre los estadios juveniles del hospedador, realizando el parasito sus mudas coordinadas con las del hospedador hasta alcanzar la fase adulta (Cora E. Cash y Raymond T. Bauer, 1994). Mientras que algunos autores han descrito para el género *Zonophryxus*, la infección se realiza sobre

hospedadoras hembras ovígeras inhibiendo su muda (Brandt & Janssen, 1994), otros proponen que el parasito se sobrepone a las mudas del hospedador nadando alejándose del exuvio y anclándose a la nueva cutícula fresca (Raupach & Thatje, 2006), las marcas dejadas por *Z. dodecapus* en el cefalotórax de *Plesionika Heterocarpus* parecen confirmar esta última teoría, además se encontraron parasitando hospedadores no ovígeros junto a *P. affinis* (Fig. 4). Según lo descrito para otras especies del género *Zonophryxus* la infección se realiza por una hembra inmadura en un estadio preadulto junto con un macho larvario unido a ella (Barnard K.H., 1913), sufriendo la metamorfosis del paso a adulto y madurando sexualmente, lo que le llevaría a perder el sexto par de perieópodos y adquirir los oosteguitos que van a formar el marsupio (Kensley, 1979). Para *Z. dodecapus* la cual parasita diferentes tipos de hospedadores con diferentes morfologías en el cefalotórax, los cambios morfológicos del parasito al alcanzar la madurez sexual podrían estar influenciados por la morfología del cefalotórax, esto plantea la hipótesis de si las especies descritas a partir de un ejemplar de hembra inmadura como es el caso de *Z. grimaldii*, podrían ser otra especie. También si en el resto de especies del género *Zonophryxus* en su etapa larvaria previa a la madurez sexual poseen 6 pereopodos, la pérdida del sexto par podría deberse a una adaptación a la morfología del cefalotórax del hospedador sobretodo teniendo en cuenta, según menciona Holthuis en la descripción de *Z. dodecapus*, que el resto de las especies del género conservan el sexto par de oosteguitos, estructuras que forman parte del sexto par de perieópodos. Los machos de *Z. dodecapus* encontrados no parecen influenciados por la morfología del hospedador para definir su morfología adulta al encontrarse ocupando el marsupio de la hembra, por lo que serían más apropiados para diferenciar morfológicamente entre especies del género.

En el caso de *Pseudione affinis* de la cual existen más citas tanto en el mediterráneo como en el atlántico sobre diferentes especies del género *Plesionika*, los ejemplares estudiados permiten comparar la diferente morfología por desplazamiento del eje de simetría bilateral del parasito según se aloje en un costado u otro del cefalotórax del hospedador.

Ambas especies de parásitos tienen amplia distribución mundial y parasitan diferentes especies de hospedadores. El encontrarse a las dos especies conjuntas parasitando un mismo hospedador indica una distribución poblacional y ciclo vital similar (Fig. 4).

En conclusión, la especie *Zonophryxus dodecapus* no es un endemismo macaronésico como se venía considerando, su distribución se puede extender a aguas gallegas del atlántico y a el mar cantábrico. Se cita sobre un nuevo hospedador, *Plesionika heterocarpus*. Las marcas encontradas en el cefalotórax de este hospedador indican que se anclan al mismo cuando la cutícula esta fresca después de la muda. En este parasito se observan pequeños cambios morfológicos entre las hembras ovígeras y las que no tienen puesta. La especie *Pseudione affinis* muestra diferencias morfológicas por desplazamiento del eje de simetría bilateral según se dispongan en un costado u otro interno del cefalotórax del hospedador.



**Figura 4.** Ejemplar de *Plesionika heterocarpus*, parasitado por *Pseudione affinis* en el costado izquierdo del cefalotórax y con las marcas del parasito *Zonophryxus dodecapus* en la zona superior del cefalotórax.

## References

- Barnard K. H. (1913) Contributions to the crustacean fauna of South Africa. *Annals of the South African Museum* 10:197-240.
- Barnard K. H. (1920) Contributions to the crustacean fauna of South Africa 6. Further additions to the list of marine isopoda. *Annals of the South African Museum* 17:319-430.
- Bourdon, R. (1968) Les Bopyridae des mers Européenes. *Mémoires du Muséum National d'Historie Naturelle (n.s.)* 50:78-424.
- Brandt A. & Janssen H. H. (1994) Redescription of *Zonophryxus quinquedens* Barnard, 1913 (Crustacea, Isopoda, Dajidae) from the Weddell Sea, Antarctica, with notes on its biology and zoogeography. *Polar Bio.* 14:343-350.
- Cash, C. E & Raymond T. Bauer (1993) Adaptations of the branchial ectoparasite *Probopyrus pandalicola* (Isopoda, Bopyridae) for survival and reproduction related to ecdysis of the host, *Palamoentes pugio* (Caridea, Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology* 13(1):111-124.
- Castelló, J.y J. Junoy (2007) Catálogo de las especies de isópodos marinos (Crustacea: Isopoda) de los archipiélagos macaronésicos. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 23 (1-4). 2007:21-31.
- Danforth, Charles G. (1976). *Epicaridea (Isopoda) of Guam*. *Crustaceana*, 30 (1): 78-80.
- Holthuis LB (1949) *Zonophryxus dodecapus* nov. Spec., a remarkable species of the family Dajidae (Crustacea: Isopoda) from the Canary Islands. *Koninklijke Nederlandsche Akademie van Wetenschnappen* 53(3):3-8.
- Kensley B. (1979) Redescrípción of *Zonophryxus trilobus* Richardson, with notes on the male and developmental stages (Crustacea, Isopoda, Dajidae). *Proc Biol Soc Wash* 92(3):665-670.
- Koehler R (1911) Isopodes nouveaux de la famille Dajides provenant des campagnes de la "Princesse Alice", *Bulletin Institute Oceanographique Monaco* 196:1-34.
- Page R. D. M. (1895) Review of the Neozeland Bopyridae (Crustacea, Isopoda, Epicaridea). *New Zealand Journal of Zoology* 12:185-212.
- Paradiso M.L., Bottari T., marino F., Boyko C.B., Rinelli P., Giannetto S. (2004) Presence and histopathology of the parasitic opod, *Pseudione affinis* (Epicaridea, Bopyridae) on pandalid shrimps from the central Mediterranean sea. *Crustaceana* 77(4):397-405.
- Raupach, M. J.& Sven Thatje (2006) New records of the rare shrimp parasite *Zonophryxus quinquedens* Barnard, 1913 (Crustacea, Isopoda, Dajidae): Ecological and phylogenetic implications. *Polar Biol* 29:439-443.
- Richardson H. (1904) Contributions to the natural history of the Isopoda. *Proc. US Nat. Mus.* 27:657-681.
- Richardson H. (1906) Isopods collected at the Hawaiian Islands by the U. S. Fish Commission Steamer "Albatross". *Bull US Fish Comm*, 23(3):819-826.
- Richardson H. (1910) Marine isopods collected in the Phillippines by the U. S. Fisheries Commission Steamer "Albatross" in 1907-1908. *Doc US Bur Fish* 736:1-44.
- Richardson H. (1914) Reports on the scientific results of the expedition to the tropical Pacific in charge of Alexander Agassiz, on the U. S. Fish Commission Steamer "Albatross". *Bull Mus Comp Zoll Harvard* 58:361-272.

## Natural variability of parasite communities of *Lepidion lepidion* in Mediterranean deep-sea

Celine Frank, Ana Pérez-del-Olmo, Maite Carrassón

The study of parasite populations and communities has led to a higher comprehension of fish biology for over one century. Due to the fact that the biology of deep sea fish is still scarcely known, parasites could represent highly potential indicators of their migrations, feeding and reproduction habits. Up to now, most parasitological studies in the Mediterranean have focused on fish of commercial interest and consequently, the deep-sea environment has been neglected for a long time. ANTROMARE project is one of the recent projects to focus on deep-sea fishes of the North West Mediterranean. The family Moridae is the best-represented family in terms of biomass, being the second in number of individuals and the third in number of species, in the Balearic deep-sea. *Lepidion lepidion* (Risso, 1810), an endemic to the North-West Mediterranean species, is the most abundant morid and the dominant fish species in the Balearic Sea at depths between 1000-1500m but knowledge about its biology and ecology is still scarce. The aim of this study is to examine the natural variability of parasite communities in a deep-sea host-parasite system. A total of 61 *L. lepidion* was collected using a bottom trawl in July 2010 from two localities off the Balearic Sea (Barcelona and Mallorca) at 2 depths (1000-1499m and 1500-2000m). The parasitological study was performed according to a standardised protocol identifying and counting all metazoan parasites. A total of 10 species was found (two digeneans: a complex of *Lepidapedon* species and larval stages of *Otodistomum* sp.; one adult nematode, *Capillostrongyloides* sp., and four larval stages, *Anisakis physeteris*, *Ascarophis* sp., *Hysterothylacium aduncum*, *Raphidascaris* sp.; one acanthocephalan, *Echinorhynchus trachyrinchi*; and two larval cestodes *Scolex pleuronectis* and *Trypanorhyncha* fam. gen. sp.). Fish were infected with at least one parasite species. Multivariate similarity analysis with Primer v.6 revealed significant community differentiation between localities ( $R = 0.167$ ;  $p = 0.002$ ) and depths ( $R = 0.188$ ;  $p = 0.001$ ) that could be attributed predominantly to the differences in the abundance of *Capillostrongyloides* sp. and *Lepidapedon* species complex, which accounted for 65% and 68% of the average dissimilarity between locality and depth respectively. A precise identification with the help of molecular analysis of the different morphs of *Lepidapedon* species found may help for a more precise characterization of parasite communities of *Lepidion lepidion* in the North West Mediterranean deep-sea.

This study was supported by the project ANTROMARE CTM2009-12214-C02-02 (MICINN) and Xarxa de Referència en Aqüicultura (XRAq, Generalitat de Catalunya).

Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia,  
Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola, 08193 Barcelona,  
Spain. (email: [maite.carrasson@uab.cat](mailto:maite.carrasson@uab.cat))



## Efecto del parasitismo sobre la condición (reservas energéticas) de la merluza (*Merluccius merluccius* L.) del Golfo de León (Mediterráneo noroccidental)

Dolors Ferrer Maza<sup>a</sup>, Sílvia Vila<sup>a</sup>, Josep Lloret<sup>a</sup> & Elisabeth Faliex<sup>b</sup>

La merluza europea (*Merluccius merluccius*, Linnaeus, 1758) es una especie con un alto valor comercial en los mercados españoles. No obstante, durante la última década, los desembarcos de ésta en el litoral mediterráneo han disminuido considerablemente. En el Golfo de León, el stock de merluza se encuentra tan sobreexplotado que la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, en su último Informe de Pesca y Acuicultura, ha alertado sobre su baja abundancia y ha propuesto medidas para su recuperación (SGMED, 2011; FAO, 2012). Para una correcta estimación de la productividad de las poblaciones explotadas, es fundamental conocer los parámetros relacionados con su condición (Lloret *et al.*, in press). Aunque el parasitismo puede afectar a estos parámetros (Barber & Wright, 2005), las investigaciones en esta área son escasas, y en el caso del Mediterráneo, todavía más (Lloret *et al.*, in press). El presente estudio analiza por primera vez las posibles relaciones entre el parasitismo y la condición de la merluza europea en el Mediterráneo noroccidental.

Se han analizado 139 merluzas hembra, en edad reproductiva (> 40 cm), que fueron adquiridas, entre enero 2010 y marzo 2012, directamente a los pescadores de palangre y arrastre del puerto de Roses (Girona). Las muestras fueron capturadas en el Golfo de León, entre el Cabo de Creus y la costa de Marsella (Francia), a una profundidad de 45510 m. Los macroparásitos se detectaron mediante un examen visual simple de los principales órganos y tejidos susceptibles de albergar parásitos (boca, branquias, cavidad visceral, corazón, hígado, estómago, intestino y gónadas). Para

cada especie de parásito se ha calculado la prevalencia (porcentaje de huéspedes infectados con uno o más parásitos) y la intensidad de la infestación (cantidad de parásitos por huésped infectado). La evaluación de la condición física de las merluzas se ha llevado a cabo mediante el cálculo de diversos índices como el factor de condición relativo Le Cren, el cual compara el peso observado de un individuo con el peso teórico que debería tener en función de su talla dentro del grupo muestreado. Otro indicador de la condición, especialmente en peces que acumulan las reservas energéticas en el hígado, como ocurre en los gádidos (entre los cuales la merluza), es el índice hepatosomático que representa la relación entre el peso del hígado y el peso eviscerado del individuo. Asimismo, dichas reservas energéticas se estimaron mediante el análisis de los lípidos totales en el hígado, llevado a cabo con el método Soxhlet, siguiendo el protocolo descrito en Shahidi (2001). Para detectar diferencias entre los grupos de individuos parasitados y no parasitados se ha efectuado el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, así como una matriz de correlaciones de Pearson para establecer relaciones entre los parámetros de la condición y la intensidad del parasitismo.

Se han detectado 1.235 macroparásitos correspondientes a los taxones Nematoda, Cestoda, Copepoda, Monogenea, Digenea y esporádicamente algunos ejemplares pertenecientes a Acanthocephala (Tabla 1). Todas las muestras resultaron estar infestadas por algún tipo de parásito, con una intensidad media de  $13,33 \pm 12,37$  parásitos/muestra.

**Tabla 1.** Principales estadísticos descriptivos para cada grupo taxonómico de macroparásitos de *Merluccius merluccius* del Golfo de León.

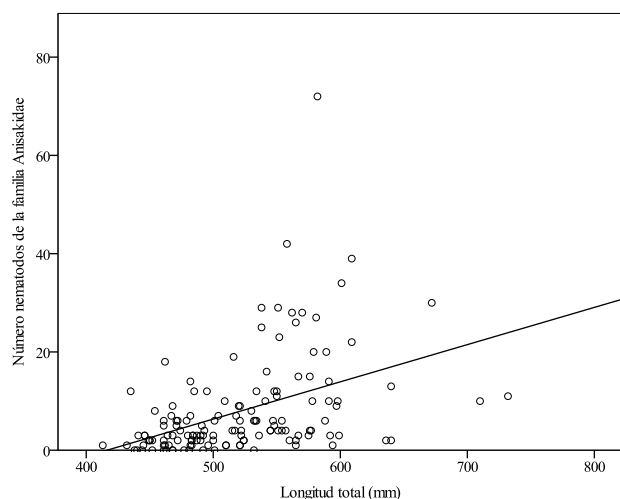
	Muestras infestadas (n=139)	Prevalencia (%)	Intensidad de la parasitación (parásitos/muestra infestada)		
			Mín.	Max.	Media ± SD
Nematoda	126	90,65	1	72	9,31 ± 10,52
Cestoda	107	76,98	1	44	4,87 ± 5,32
Copepoda	50	35,97	1	8	1,86 ± 1,48
Monogenea	26	18,71	1	4	1,54 ± 0,76
Digenea	10	7,19	1	7	2,10 ± 1,79
Acanthocephala	4	2,88	1	2	1,25 ± 0,50
TOTAL	139	100,00	1	76	13,33 ± 12,37

<sup>a</sup> Departament de Ciències Ambientals, Universitat de Girona, E17071, Girona, Spain (dolors.ferrer@udg.edu)

<sup>b</sup> Centre de formation et de recherche sur les environnements méditerranéens (CEFREM), Université de Perpignan Via Domitia, FR66860, Perpignan, France

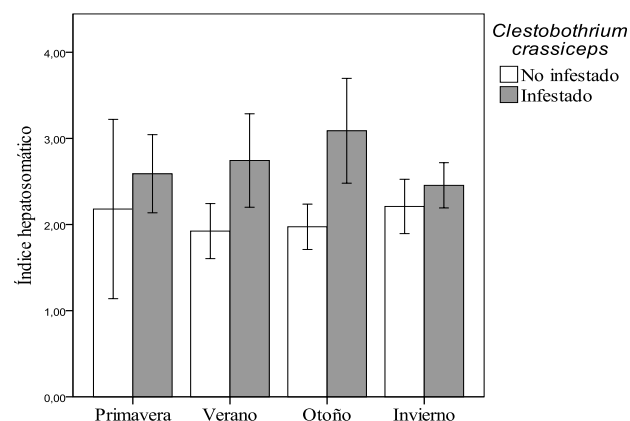
El grupo con una mayor prevalencia fue el de los nematodos (90,65%), con una intensidad máxima de 72 parásitos en un mismo individuo. Entre los nematodos, los tricúridos representaron un 7%, mientras que la gran mayoría pertenecieron a la familia Anisakidae (93%). De entre éstos, la especie más abundante ha sido *Anisakis pegreffii* (83%), perteneciente al complejo *Anisakis simplex* (s.l.), seguida por *Anisakis physeteris* (11%) e *Hysterothylacium aduncum* (6%). El siguiente grupo más numeroso han sido los cestodos, representados por una única especie, *Cleistobothrium crassiceps*, con una prevalencia de un 76,98% y una intensidad máxima de 44 cestodos.

El número total de anisákidos presentó una correlación positiva con la talla de las merluzas (Figura 1). Esta observación concuerda con otros estudios (Valero *et al.*, 2006) donde las merluzas de mayor tamaño, tanto del Atlántico como del Mediterráneo, presentaban unos valores de prevalencia e intensidad de la infestación por anisákidos mayores que los individuos de menor talla. Este hecho se puede explicar con el complejo ciclo vital de los anisákidos, los cuales están presentes en la merluza en su estado de larva L3 en espera de que ésta (huésped intermedio) sea depredada por un mamífero marino donde completar su ciclo vital (excepto *H. aduncum* que alcanza el estado adulto en peces teleósteos). En consecuencia, las merluzas de mayor tamaño (mayor edad) han tenido más tiempo para ingerir y acumular las larvas.



**Figura 1.** Correlación lineal entre el número de nematodos de la familia Anisakidae y la longitud total de *Merluccius merluccius* del Golfo de León. ( $y = 0,0758x - 31,535$ ;  $n = 139$ ,  $R^2 = 0,186$ ,  $P < 0,001$ ).

Aunque en el presente estudio, los indicadores de la condición (Le Cren, índice hepatosomático, contenido lipídico) de la merluza no se han visto afectados negativamente por el parasitismo (tipo de parásito, prevalencia o intensidad), la presencia del cestodo *Cleistobothrium crassiceps* en *Merluccius merluccius* se relaciona positivamente con el índice hepatosomático ( $P < 0,05$ ). Los individuos infestados presentan un índice hepatosomático mayor que los no infestados en todas las estaciones del año (Figura 2).



**Figura 2.** Media del índice hepatosomático de *Merluccius merluccius* del Golfo de León infestado o no por el cestodo *Cleistobothrium crassiceps* en cada estación del año. Las barras representan el error típico de la media.

En general, los acantocéfalos y los platelmintos intestinales (cestodos y trematodos digeneos) se aprovechan de las enzimas digestivas de sus huéspedes para absorber directamente a través de su tegumento los nutrientes. Probablemente, la presencia de este tipo de parásitos induzca a los huéspedes a alimentarse más para compensar los nutrientes perdidos y de esta manera conservar la condición física. En el mismo sentido, Aquino *et al.* (2010) compararon los valores del factor de condición relativo Le Cren entre dos grupos de pacúes (*Metynnis lippincottianus*) infestados o no por diversas especies de parásitos (nematodos y/o digeneos) y concluyeron que los parásitos considerados en ese estudio no afectaban negativamente la condición de los individuos y en alguna zona incluso la relación era positiva. En cambio, Bean & Bonner, (2009) detectaron una disminución en el factor de condición de Fulton de los ciprínidos *Cyprinella lutrensis* infestados por el cestodo *Bothriocephalus acheilognathi*. Por otra parte, la infestación por ectoparásitos de ciclo directo (monogeneos, copépodos e isópodos) parece, en algunos casos, tener claros efectos negativos sobre la condición física de sus huéspedes. Algunas investigaciones pioneras en esta área (Guillaume *et al.*, 1985) demostraron que el copépodo hematófago *Lernaocera branchialis* provocaba anemia en *Merluccius merluccius* capturado en el Golfo de León. De la misma manera, Fogelman (2009) demostró que los individuos de pez cardenal (*Cheilodipterus quinquelineatus*) infestados con el isópodo *Anilocra apogonae* presentaban una reducción del peso corporal y de los índices hepatosomático y gonadosomático. Además, parece ser que existen factores que pueden crear sinergias con los efectos negativos de los parásitos como son la contaminación (Khan, 1987) o la sobrepesca. Ésta última resultó ser un factor a considerar cuando Sala-Bozano *et al.* (2012) estudiaron dos poblaciones mediterráneas de herreras (*Lithognathus mormyrus*) infestadas con el isópodo (*Ceratothoa italica*) y descubrieron que el parásito afectaba negativamente sobre el tamaño del hígado (índice hepatosomático) únicamente en la población que recibía un mayor impacto pesquero.

En conclusión, la merluza europea (*Merluccius merluccius*) del Golfo de León presenta una fauna parasitaria que comprende

especies pertenecientes a los taxones Nematoda, Cestoda, Copepoda, Monogenea, Digenea y Acanthocephala. Todas las merluzas están infestadas, en mayor o menor medida, por algún tipo de parásito. La prevalencia de nematodos, especialmente los de la familia Anisakidae, es muy elevada (91%) y la intensidad aumenta en los individuos con un tamaño mayor. También cabe destacar la elevada prevalencia de los cestodos (77%). La condición de la merluza europea en el Golfo de León no se ve negativamente afectada por sus parásitos, sino al contrario, la presencia del cestodo *Cleistobothrium crassiceps* está relacionada con un aumento del índice hepatosomático.

## References

- Aquino, L. H., Hideki, F., Lopes, T., Massato, R., & Cezar, G. (2010). The influence of parasitism on the relative condition factor (Kn) of *Metynnis lippincottianus* (Characidae) from two aquatic environments: the upper Parana river floodplain and Corvo and Guairacá rivers, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 32(1), 8386.
- Barber, I. & Wright H. A. (2005). Fish physiology and behaviour: the effects of parasites. In *Fish Physiology Vol. 24, Behaviour: Interactions with Fish Physiology*. (eds. Sloman K., Wilson R. W. and Balshine S.). Elsevier/Academic Press.
- Bean, M. G., & Bonner, T. H. (2009). Impact of *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda: Pseudophyllidea) on *Cyprinella lutrensis* Condition and Reproduction. *Journal of Freshwater Ecology*, 24(3), 383391.
- FAO, General Fisheries Commission for the Mediterranean. (2012). *Report of the fourteenth session of the Scientific Advisory Committee. Sofia, Bulgaria, 2024 February 2012*. FAO Fisheries and Aquaculture Report, N° 1001. Rome, FAO. 200 pp.
- Fogelman, R. M., Kuris, A. M., & Grutter, A. S. (2009). Parasitic castration of a vertebrate: Effect of the cymothoid isopod, *Anilocra apogonae*, on the five-lined cardinalfish, *Cheilodipterus quinquelineatus*. *International journal for parasitology*, 39(5), 577583.
- Guillaume, C., Douëllou, L., Romestand, B., & Trilles, J. P. (1985). Influence d'un parasite hématophage: *Lernaeocera branchialis* (L., 1767) (Copépode, Pennellidae), sur les constantes erythrocytaires de son hôte *Merluccius merluccius* (L., 1758). *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 47, 5561.
- Khan, R. A. (1987). Crude oil and parasites of fish. *Parasitology today*, 3(4), 99100.
- Lloret, J., Faliex, E., Shulman, G. E., Raga, J. A., Sasal, P., Muñoz, M., Casadevall, M., Ahuir-Baraja, A. E., Montero, F. E., Repullés-Albelda, A., Cardinale, M., Rätz, H. J., Vila, S. & Ferrer, D. (in press). Fish health and fisheries, implications for stock assessment and management: the Mediterranean example. *Reviews in Fisheries Science*.
- SalaBozano, M., Van Oosterhout, C., & Mariani, S. (2012). Impact of a mouth parasite in a marine fish differs between geographical areas. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105(4), 842852.
- SGMED (2011). Assessment of Mediterranean Sea stocks part 2 (STECF1114). Edited by M. Cardinale, H. J. Rätz & A. Charef. Joint Research Council-European Commission.
- Shahidi, F. (2001). Extraction and Measurement of Total Lipids. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. D1.1.D1.1.11.
- Valero, A., LópezCuello, M. M., Benítez, R., & Adroher, F. J. (2006). *Anisakis* spp. in European hake, *Merluccius merluccius* (L.) from the Atlantic off northwest Africa and the Mediterranean off southern Spain. *Acta Parasitologica*, 51(3), 209212.

## Gills of scombrid fish as habitat: can the gill design drive the site specificity of didymozoids (Trematoda: Didymozoidae)?

Salvatore Mele<sup>a\*</sup>, Maria Grazia Pennino<sup>b</sup>, Jacopo Culurgioni<sup>c</sup>, David Macías<sup>d</sup>, Piero Addis<sup>c</sup>, Encarnación García<sup>b</sup>, María José Gómez-Vives<sup>d</sup>, Simonetta Masala<sup>a</sup>, Giovanni Garippa<sup>a</sup>, Francisco Esteban Montero<sup>c</sup>, Paolo Merella<sup>a</sup>

The gill of scombrid (Perciformes: Scombridae) have a design specialized for ensuring rigidity required by ram ventilation and for meeting increased oxygen demands associated with high aerobic performance (Wegner *et al.* 2010). The gills are the most parasitized organ of the body of the scombrid fish, harbouring numerous species of ectoparasites (monogeneans and copepods) and tissue parasites (didymozoids trematodes). The parasites are not randomly distributed on the gills but they seem to select a specific area of the gill tissues. Several studies deal with the distribution and the factors involved in the site selectivity of gill ectoparasites, while the same aspects concerning the didymozoids are poorly investigated even if the site specificity of these trematodes is already known (Mele *et al.* 2012).

The aim of this work is to study the distribution and its potential functional origin of didymozoid parasites on the gills of six scombrid species from the western Mediterranean Sea.

Parasites were collected from the gills of six scombrid species: five tunas (54 specimens of *Auxis rochei*, 108 of *Euthynnus alletteratus*, 35 of *Katsuwonus pelamis*, 60 of *Thunnus alalunga* and 60 of *Thunnus thynnus*) and 59 specimens of the mackerel *Scomber colias*, sampled in the western Mediterranean Sea from 2008 to 2011. After the landings, the data of fish samples (species, size, sex) were collected, the gill excised, labelled, stored in plastic bags and frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ . In the laboratory the thawed samples of gills were examined by naked eye and under a stereomicroscope for metazoan parasites. The exact location of gill infections was recorded as follow: the holobranchs named as I, II, III and IV, from the anterior-external to the posterior-internal, were divided in three main parts (the arch and two hemibranchs). The arch was subdivided in five regions (A1, A2, A3, A4 and A5 from the anterior to caudal part of the gills), each containing four sub-regions (inner, upper, outer and vessels regions). Each hemibranch was divided in 15 region: five concerning the basal

(B1 to B5), five the central (C1 to C5) and five the distal regions (D1 to D5) of gill filaments; each regions containing three sub-regions (inner and outer margins of filaments and area of the secondary lamellae). Parasites trematodes were stored in 70% ethanol. Prevalence and mean intensity of each parasite species were calculated according to Bush *et al.* (1997). Fisher's exact test and bootstrap test were used to evaluate differences between prevalence and mean intensities (Rozsa *et al.*, 2000). The results were plotted to show the distribution of each parasite for gill area using a heat map graph and multivariate analysis.

Twenty-two species/taxa of adult didymozoids were collected from the gill tissues of host samples. Eight were in *K. pelamis*: *Atalostrophion cf. biovarium*, *Didymocylinndrus filiformis*, *Didymocylinndrus simplex*, *Didymocystis reniformis*, *Didymozoon longicolle*, *Didymoproblema fusiformis*, *Koellikeria sp.*, *Lobatozoum multisacculatum*; 7 in *T. thynnus*: *Didymocystis reniformis*, *Didymocystis sp. 3 (sensu Rodríguez-Marín et al. 2008)*, *Didymosulcus wedli*, *Didymosulcus sp. 2 (sensu Rodríguez-Marín et al. 2008)*, *Didymosulcus sp. 3*, *Didymozoon pretiosus*, *Wedlia bipartita*; 6 in *T. alalunga*: *Didymosulcus aahi*, *Didymosulcus dimidiatus*, *D. longicolle*, *Didymozoon pretiosus*, *Nematobothrium latum*, *Wedlia bipartita*; 3 in *E. alletteratus*: *Didymocystis sp.*, *Didymozoon sp.*, *Didymozoidae gen. sp.*; 2 in *S. scombrus*: *Nematobothrium filiforme* and *N. scombri*; and one in *A. rochei*: *Didymozoon auxis*. Most of the parasites showed significant difference in prevalence and mean intensity between the gill areas. According to host species, almost all the gill tissues (skin, rakers and vessel areas of gill arch and margins of gill filaments), except the secondary lamellae, were infected by a least one parasite species.

The didymozoids seem to be the only known family of trematodes specialized to infect the connective gill tissues of scombrid fish from the western Mediterranean Sea. They showed both a host specificity at the genus level and site specificity at the species level. The genus *Nematobothrium* infects only the gill of the mackerel with two species having a specific and well separated site of infection. The genus *Didymozoon* infects tunas with several species, almost all located in the inner margin of gill filaments. The genus *Didymosulcus* infects only the tunas belonging the genus *Thunnus*. Therefore the various areas of gills can be distinguished for morphological (different epithelium between arch, margin and secondary lamellae of gill filaments) and physiological (perfusion in gill filaments, food retention of rakers and epithelium of arch) features that may have played a decisive role in the speciation

<sup>a</sup>Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dipartimento di Biologia Animale, Università di Sassari, Sassari, Italy, \*[smele@uniss.it](mailto:smele@uniss.it)

<sup>b</sup>Centro Oceanográfico de Murcia, Instituto Español de Oceanografía, San Pedro del Pinatar, Spain;

<sup>c</sup>Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Cagliari, Cagliari, Italy

<sup>d</sup>Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Málaga, Fuengirola, Spain

<sup>e</sup>Unidad de Zoología Marina, Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universitat de València, Valencia, Spain

of parasites. For example the distribution of *D. longicolle* and *D. pretiosus* that occupied the basal and central part of the inner margin of filaments could be due to the difference in morphological (e.g., the afferent arteria of the inner margin of filaments splits in two vessels, one irrigating the basal and the other the central / distal part, respectively) and physiological characteristics of these areas (e.g., the basal part is imbued in gill environmental, while the central is in marine environmental). The exact mechanisms

that drive the didymozoid larvae to infect only a specific area are still unknown, but the differences (both morpho-functional and parasitological) between areas suggest to investigate on which are the biological factors that affect the parasite to select its microhabitat in the host gills.

Research supported by the Spanish Government projects (GPM-3, GPM-4 and PARATUN AGL2010-20892) and Fondazione Banco di Sardegna 2010.