

Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, en tanques de 9 m³

C. Moxica¹, F. Linares², J. J. Otero¹, J. Iglesias¹ y F. J. Sánchez¹

¹ Centro Oceanográfico de Vigo. Instituto Español de Oceanografía. Cabo Estay, Canido. Apartado 1552. E-36200 Vigo (Pontevedra), España. Correo electrónico: covadonga.moxica@vi.ieo.es

² Centro de Investigaciones Mariñas. Xunta de Galicia. Pedras de Corón, s/n. Apdo. 13. E-36620 Vilanova de Arousa (Pontevedra), España

Recibido en julio 2001. Aceptado en febrero 2002.

RESUMEN

Este trabajo describe un sistema de cultivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, en tanques de 9000 litros y a una densidad larvaria de 1 individuo/litro. La dieta principal, *Artemia salina* (L., 1756), se complementó con zoeas de centolla, *Maja squinado* Herbst, 1788. Durante los dos meses de cultivo larvario, se controlaron diariamente la temperatura, el oxígeno disuelto, la densidad de presas y se registró el peso de las paralarvas mediante muestreos periódicos. Además, se realizaron análisis de proteínas, lípidos totales, clases de lípidos y ácidos grasos de las presas y de las paralarvas cultivadas. A la edad de 56 días, las paralarvas pesaron 9,21 mg (peso seco) y presentaron 17-18 ventosas en cada brazo. La tasa de supervivencia final fue de 0,2 %.

Palabras clave: Pulpo, *Octopus vulgaris*, cultivo de paralarvas, análisis bioquímicos.

ABSTRACT

Intensive culture of octopus, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, paralarvae in 9 m³ tanks

The present paper describes a cultivation system of octopus, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, paralarvae in 9000 l tanks, at a density of 1 paralarva/l. Their diet consisted mainly of *Artemia salina* (L., 1756), with spider crab, *Maja squinado* Herbst, 1788, zoeas as a complement. During the two months of cultivation trial, data on temperature, dissolved oxygen, and prey density were recorded. Paralarvae weight was sampled periodically, and analyses of proteins, total lipids, lipid classes and fatty acids of the prey and paralarvae were carried out, as well. At 56 days, the mean weight of the paralarvae was 9.21 mg (dry weight) and they had developed 17-18 suckers on each arm. The final survival rate was 0.2 %.

Keywords: *Octopus*, *Octopus vulgaris*, paralarvae cultivation, biochemical analysis.

INTRODUCCIÓN

El cultivo larvario de cefalópodos, cuyas paralarvas son de pequeño tamaño (< 3 mm al nacer) y tienen una fase de vida planctónica larga, presenta una gran complejidad. Con paralarvas de *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, los mejores resultados se han logrado utilizando como presa zoeas de diversos crustáceos

(Itami *et al.*, 1963; Villanueva, 1995) o artemia cultivada (Hamasaki *et al.*, 1991; Iglesias *et al.*, 2000; Navarro y Villanueva, 2000). En alguna de estas experiencias, las paralarvas adoptaron el hábito de vida béntico, pero en la mayoría de los casos la mortalidad final fue muy elevada antes de los tres meses de vida.

Actualmente ya se está cultivando pulpo a escala industrial en Galicia (noroeste de España), y exis-

ten cinco pequeñas empresas que producen conjuntamente entre 30 y 50 toneladas al año. El engorde se realiza a partir de pulpos subadultos de 750 g a 1 kg, los cuales son capturados por la flota pesquera local y llevados vivos a las instalaciones flotantes de engorde situadas en las rías gallegas (Luaces-Canosa y Rey-Méndez, 2001; Iglesias *et al.*, 2000). Debido a la alta mortalidad larvaria citada anteriormente no existe todavía una producción artificial de juveniles en criadero, por lo que el crecimiento de esta industria se encuentra seriamente limitado.

La alta mortalidad larvaria es posible atribuirla a tres factores: la no disponibilidad de una dieta viva adecuada en tamaño y composición nutritiva, la falta de estandarización de la técnica de cultivo y, finalmente, el escaso conocimiento de la biología de esta especie en estas fases tempranas, con el consiguiente desconocimiento de sus necesidades nutritivas básicas. Un inconveniente adicional que dificulta la consecución de mayores progresos es la escasez de equipos, tanto humanos como técnicos, que se dediquen a la investigación en el cultivo del pulpo y, más concretamente, en sus fases iniciales, que son las que presentan una mayor complejidad.

El Centro Oceanográfico de Vigo del Instituto Español de Oceanografía (IEO) ha venido desarrollando en los últimos años diversos trabajos de investigación centrados en la fase de cultivo larvario, con el objetivo de resolver los problemas que impiden completar el ciclo de cultivo de esta especie. En el presente trabajo se describe una técnica de cultivo larvario que utiliza tanques de 9 m³, la cual, a juzgar por los resultados preliminares, puede abrir una nueva vía para el cultivo larvario. Además, se analiza la composición bioquímica de las presas (artemia y zoeas) y de las paralarvas producidas.

Todos estos resultados se comparan con los de experiencias de cultivo larvario desarrolladas anteriormente en el mismo centro, trabajando con volúmenes de cultivo más pequeños y utilizando diferentes enriquecedores para la artemia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las paralarvas utilizadas en las experiencias se obtuvieron del *stock* de reproductores del Centro Oceanográfico de Vigo del IEO, siguiendo la me-

todología descrita en los trabajos de Iglesias, Sánchez y Otero (1997) y Moxica *et al.* (2001).

El tanque utilizado para el cultivo fue cilíndrico (2,95 m de diámetro y 1,5 m de altura), de 9 000 litros de capacidad útil, con paredes negras y fondo blanco. Se sembraron 9 000 paralarvas en el tanque (1 indiv/1) el mismo día de la eclosión (día 0). Durante las dos primeras semanas el circuito de agua se mantuvo cerrado, y se introdujeron semanalmente en el tanque 100 litros de fitoplancton [40 % de *Isochrysis galbana* (Parke), 40 % de *Tetraselmis suecica* (Kyllin) y 20 % de *Chaetoceros* sp.]. A partir del día 15 se abrió parcialmente el circuito de agua por un periodo de 5 h/día, con un flujo de 0,9 m³/h. El agua utilizada se filtró a través de filtros de 1 micra y se mantuvo en el tanque una intensidad de luz en superficie de 500 a 1 000 lux durante las 24 horas. Se dispusieron dos aireadores suspendidos a unos 10 cm del fondo, con el fin de producir una aireación moderada que permitiese una distribución homogénea de las presas. Se realizaron controles diarios de temperatura y oxígeno disuelto, así como del número de presas y de la concentración de microalgas; eventualmente se midió el nivel de nitrógeno y de amonio en el tanque.

La alimentación consistió en dos distribuciones diarias de artemia, ajustando a una densidad final de 0,1 artemias/ml. Durante los primeros días se les suministró nauplios y a partir del día 6 se incrementó el tamaño de la presa, utilizando metanauplios y adultos de 1 a 4 mm, cultivados a 25 °C durante 7-10 días con las microalgas anteriormente citadas. La tercera semana de vida se añadió al tanque, como suplemento alimenticio, una cantidad diaria de 3 000 a 5 000 zoeas de centolla, *Maja squinado* Herbst, 1788, obtenidas de hembras ovadas mantenidas en cautividad.

La supervivencia fue estimada al mes de vida por recuento de 5 submuestras de 2 litros cada una cogidas aleatoriamente en el tanque de cultivo. Al finalizar la experiencia, el día 56, se contaron todas las paralarvas para conocer la supervivencia final.

Se determinó el peso seco de las paralarvas los días 0, 15, 30, 45 y 56. Para ello se muestrearon 10 individuos que fueron lavados con agua destilada, secados en estufa a 55 °C durante 24 horas y pesados en una microbalanza con 0,1 µg de precisión. Para medir la longitud total (LT) de las paralarvas éstas fueron previamente inmovilizadas, introduciéndolas 5 minutos en un congelador a -20 °C.

Las paralarvas de pulpo para análisis bioquímicos se extrajeron de los tanques de cultivo al empezar la prueba (día 0, paralarvas recién eclosionadas), el día 30 (tras el suministro de zoeas como suplemento alimenticio) y el día 56 (final del experimento). Las muestras fueron lavadas con agua destilada y posteriormente se congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y liofilizaron. Los análisis bioquímicos se realizaron en el Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA) de Corón de la Xunta de Galicia. Las proteínas se analizaron por el método de Bradford (1976). Los lípidos totales se extrajeron con cloroformo-metanol (2:1) según Blight y Dyer (1959), modificado por Fernández Reiriz *et al.* (1989), realizándose la determinación cuantitativa por gravimetría en balanza analítica con 0,1 mg de precisión. Las clases de lípidos se separaron por cromatografía en capa fina (TLC) según Freeman y West (1966) y Bitman y Wood (1982), y su cuantificación se realizó por densitometría. Los ácidos grasos, previa transesterificación y metilación a sus ésteres metílicos usando el método de Lepage y Roy (1986), se analizaron por cromatografía de gases (GC).

Los mismos métodos fueron utilizados para el análisis bioquímico de las presas vivas suministradas (artemia y zoeas de centolla).

RESULTADOS

El peso seco medio de las paralarvas al eclosionar fue de $0,36 \pm 0,03$ mg y al final del experimento, el día 56 de vida, el de las paralarvas supervivientes fue de $9,21 \pm 0,92$ mg (figura 1).

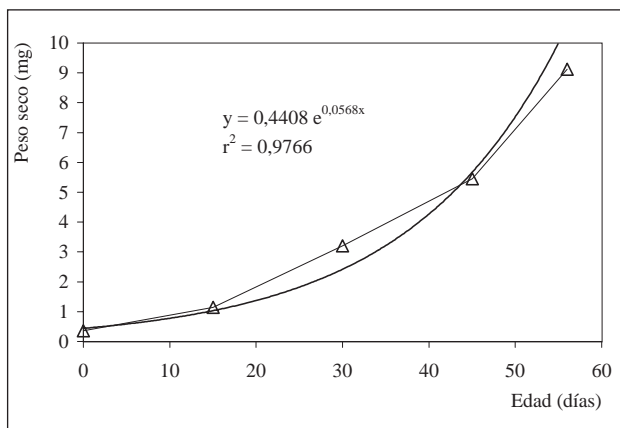


Figura 1. Curva de crecimiento de paralarvas de pulpo alimentadas con artemia y zoeas de centolla. Cada valor representa el peso medio de diez ejemplares.

Durante todo este periodo siguieron un modelo de crecimiento que se ajustó a la siguiente ecuación exponencial

$$y = 0,4408 \cdot e^{0,0568x} \quad r^2 = 0,98$$

donde: y = peso seco en mg y x = edad expresada en días.

A los 56 días, aunque no habían adoptado todavía un hábito de vida béntico, mostraban 17-18 ventosas en cada brazo, que es cuando según otros autores (Villanueva, comunicación personal), al ser trasladadas a tanques de menor profundidad, finalizan su fase pelágica. La supervivencia al mes de vida fue del 8,3% y al final de la experiencia, cuando todas las paralarvas fueron utilizadas para realizar los análisis bioquímicos, la tasa de supervivencia fue del 0,2%.

Los resultados de los análisis bioquímicos se exponen en la tabla I. En ella se presentan los valores de la composición en proteínas, lípidos totales, clases de lípidos y ácidos grasos, tanto de las paralarvas de pulpo, como de las presas utilizadas como dieta.

Las paralarvas recién eclosionadas presentan unos porcentajes de proteínas y lípidos sobre peso seco del 40 y 14% respectivamente. El día 30 de vida, las proteínas suponen el 47%, del peso seco de las larvas, porcentaje que se mantiene hasta el día 56 de vida. En el día 30 de vida los lípidos representan el 11% del peso seco, aumentando ligeramente hasta el 13% en el día 56 de vida.

En cuanto a las clases de lípidos se puede observar la no existencia de lípidos de reserva (ésteres + ceras y triglicéridos) y el alto porcentaje de fosfolípidos en todas las paralarvas analizadas (36,5-52% del total de lípidos). Los ácidos grasos libres suponen un 38% de los lípidos en las larvas recién eclosionadas, pero posteriormente disminuyen hasta alcanzar un 4% en el día 56 de vida. El porcentaje de esteroides, por el contrario, aumenta con la edad, alcanzando un 18% en el día 56 de vida.

En lo referente a los ácidos grasos, los poliinsaturados (PUFA) suponen en las larvas recién eclosionadas un 50% del total, que se mantiene con pequeñas variaciones durante el cultivo (47% de PUFA en el día 56), mientras que los saturados están en torno al 30% del total.

DISCUSIÓN

En cultivos realizados en pequeños volúmenes (menos de 100 litros), diversos autores han com-

Tabla I. Análisis bioquímicos de las paralarvas y las presas utilizadas durante el cultivo (proteínas, clases de lípidos y ácidos grasos). Los datos son media de tres réplicas. Desviaciones estándar: < 10 %.

| | Paralarvas | | | Presas | |
|--|------------|--------|--------|---------|-------|
| | Día 0 | Día 30 | Día 56 | Artemia | Zoeas |
| Proteínas y lípidos (% peso seco) | | | | | |
| Proteínas | 40,22 | 46,63 | 46,92 | 48,35 | 23,27 |
| Lípidos | 13,72 | 10,90 | 13,17 | 10,93 | 6,23 |
| Clases de lípidos (% total de lípidos) | | | | | |
| Ésteres + ceras | 0 | 0 | 0 | 4,89 | 9,78 |
| Triglicéridos | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ácidos grasos libres | 38,14 | 15,56 | 4,39 | 11,36 | 0 |
| Esteroles | 8,30 | 16,20 | 17,95 | 5,85 | 11,43 |
| Fosfolípidos | 36,45 | 51,73 | 37,66 | 52,55 | 69,72 |
| Ácidos grasos (% sobre el total) | | | | | |
| PUFA | 49,80 | 43,50 | 46,60 | 30,70 | 46,10 |
| Saturados | 31,70 | 30,70 | 29,80 | 24,40 | 25,00 |
| Monoinsaturados | 9,80 | 18,30 | 13,40 | 37,50 | 19,80 |
| Suma (n-3) | 39,50 | 31,70 | 33,30 | 22,24 | 37,61 |
| Suma (n-6) | 5,80 | 8,70 | 9,20 | 7,80 | 8,40 |

probado que el crecimiento de las paralarvas es mejor cuando se utilizan como dieta larvas de crustáceos (Itami *et al.*, 1963; Villanueva, 1995). Sin embargo, cuando se trata de cultivar paralarvas en grandes volúmenes, con el consiguiente suministro diario de miles de presas vivas, la artemia es en la actualidad el único alimento sin problemas de disponibilidad y es bien aceptada por las paralarvas desde su estado de nauplio hasta el ejemplar adulto (1-4 mm), enriquecida con fitoplancton (Hamasaki *et al.*, 1991; Iglesias, Sánchez y Otero, 1997). Dichos autores no sólo consiguen que las paralarvas se alimenten de artemia durante 1-2 meses, sino que Hamasaki *et al.* (1991) logran que desarrollen toda su fase pelágica con esta dieta.

No obstante, el crecimiento de las paralarvas no es tan rápido cuando se usa artemia como única dieta por lo cual en el presente trabajo se planteó utilizar como dieta larvaria artemia adulta complementada con otro organismo vivo que pudiese cu-

brir más eficazmente los requerimientos nutricionales del pulpo. La utilización de zoeas de centolla suministradas durante un corto periodo de tiempo, en una "ventana" de siete días, viene justificada por el hecho de plantear un sistema viable desde el punto de vista de su aplicación industrial. Además, con esta técnica se complementaría una dieta estándar (artemia) con un alimento similar al utilizado por las paralarvas en su medio natural.

Con el fin de analizar con mayor detalle los resultados alcanzados, en la tabla II se comparan los obtenidos en este trabajo (experiencia 5), con experiencias previas de cultivo larvario a grandes volúmenes realizadas por nuestro equipo de investigación en el Centro Oceanográfico de Vigo del IEO.

En la tabla II se observa que las paralarvas alimentadas con artemia enriquecida con kril, dunella o algamac viven solamente de 20 a 43 días. Las que utilizan artemia con fitoplancton en el medio de cultivo (experiencia 1) pueden llegar a los dos me-

Tabla II. Comparación entre las distintas experiencias de cultivo larvario realizadas en el C. O. de Vigo del IEO. La experiencia 5 corresponde a este trabajo. (*): (A): artemia, (F): fitoplancton, (K): kril liofilizado, (D): dunella (pienso de 1 000 a 2 000 µm, de la empresa Kurios), (AL): algamac (extracto seco de *Schizochytrium* sp. de la empresa Aquamarine Biofauna) y (Z): zoeas de centolla.

| Experiencia | Volumen (litros) | Densidad (larvas/l) | Alimento (*) | Días de vida | N.º ventosas en brazo | Peso seco día 15 (mg) | Peso seco final (mg) |
|-------------|------------------|---------------------|--------------|--------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | 2 000 | 12,5 | A + F | 60 | 6-8 | 0,88 ± 0,27 | 1,55 ± 0,25 |
| 2 | 2 000 | 5 | A + K | 43 | 4-6 | 0,59 ± 0,08 | 1,00 ± 0,16 |
| 3 | 2 000 | 5 | A + D | 35 | 4-6 | 0,66 ± 0,06 | 1,05 ± 0,14 |
| 4 | 2 000 | 5 | A + AL | 20 | 4-5 | 0,52 ± 0,09 | 1,03 ± 0,16 |
| 5 | 9 000 | 1 | A + F + Z | 56 | 17-18 | 1,15 ± 0,12 | 9,21 ± 0,92 |

ses de vida, pero su peso seco a esa edad es muy bajo (1,55 mg). Sin embargo, la utilización conjunta de artemia, fitoplancton y zoeas de centolla (experiencia 5) da como resultado que las paralarvas tengan un peso final de 9,21 mg, significativamente mayor que en la experiencia 1 (*t*-student, $p < 0,01$).

Los resultados referidos a peso húmedo y número de ventosas en el primer mes de vida (14,16 mg y 10, respectivamente) han sido muy similares a los obtenidos por Villanueva (1995), que utilizó zoeas de crustáceos como única dieta en todo el periodo del cultivo. En nuestro trabajo, en el que las paralarvas fueron alimentadas en el segundo mes exclusivamente con artemia, los resultados de peso (42,23 mg en peso húmedo a los 56 días de vida) y el número de ventosas (17-18) son inferiores a los obtenidos por Villanueva (173,18 mg y 30 ventosas), lo que induce a pensar que un aporte adicional de zoeas en el segundo mes de vida de las paralarvas podría haber aumentado su crecimiento. El peso seco final obtenido (9,21 mg a los 56 días de vida) y el número de ventosas que presentan las paralarvas en ese momento (17-18), comparados con los datos obtenidos en experiencias previas, hacen pensar que la utilización de presas complementarias en periodos alternos durante el cultivo larvario del pulpo puede ser una posible solución al problema de la mortalidad larvaria. No obstante, la influencia que ha podido tener este complemento alimenticio, junto con la estandarización de las condiciones de cultivo a grandes volúmenes, han de ser ratificados en trabajos posteriores.

En cuanto al análisis bioquímico, el porcentaje de lípidos en el día 30 de vida (11 %) es inferior al obtenido por nosotros en paralarvas alimentadas con artemia enriquecida con otros productos, como *Dunella*, que son más ricos en lípidos que las zoeas utilizadas aquí como complemento de la artemia (resultados no publicados).

Los datos obtenidos son similares a los de otros autores, y tanto Jangaard y Akman (1965), como Nash *et al.* (1978) y Hayashi y Yamamoto (1987) consideran que los triglicéridos son componentes de escasa importancia en los cefalópodos. Por otro lado, el alto porcentaje de triglicéridos (25 % del total de lípidos) obtenido por Navarro y Villanueva (2000) en paralarvas cultivadas con artemia enriquecida es considerado un reflejo de la composición del enriquecedor utilizado. Estos mismos autores obtienen entre el 15-20 % de esteroides en

paralarvas en cultivo, y concluyen que esteroides + fosfolípidos suponen más del 60 % de los lípidos totales de las paralarvas de pulpo. Nuestros resultados son ligeramente inferiores pues varían entre un 45 % en la eclosión y un 68 % al mes de vida.

Con respecto a los ácidos grasos, los valores de los PUFA son prácticamente iguales a los obtenidos por Navarro y Villanueva (2000) que obtuvieron un 49,2 % de PUFA en paralarvas recién eclosionadas y un 42-49 % en cultivo, aunque los valores obtenidos por estos autores se corresponden con paralarvas de 30 días. Similares son también los valores obtenidos por estos autores y nuestros datos en ácidos grasos saturados, en torno al 30 % del total. El porcentaje más alto de monoinsaturados obtenido en paralarvas cultivadas con artemia enriquecida, frente a las que se les ha suministrado zoeas como complemento, puede deberse a la diferencia existente entre estas dos presas: 37,5 % de monoinsaturados en artemia, frente al 20 % en las zoeas de centolla. El porcentaje de PUFA en las zoeas de centolla (46 %) es más alto que en la artemia (31 %). Los PUFA, particularmente la serie n-3, tienen gran importancia en los primeros estadios de desarrollo por el papel de estos componentes estructurales en la síntesis de membranas (Henderson y Sargent, 1985).

La buena aceptabilidad de las zoeas de centolla observada en las paralarvas de pulpo, el mejor crecimiento registrado cuando han sido utilizadas como complemento alimenticio, y su composición bioquímica, que parece adecuarse a los requerimientos del pulpo (alto contenido en fosfolípidos, carencia de triglicéridos y alto porcentaje de PUFA), hacen de estas presas una posible alternativa en las primeras fases de alimentación larvaria del pulpo, bien como fuente única de alimento (pequeños volúmenes) o como complemento de la artemia cuando el cultivo se realiza a grandes volúmenes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) y el IEO, mediante los proyectos Cytmar95-1932-02 y Feder: 1FD97-0027. Se agradece la colaboración prestada por el personal técnico y becario del Mó-

dulo de Experiencias Biológicas del Centro Oceanográfico de Vigo del IEO y del Centro de Investigaciones Mariñas de la Xunta de Galicia.

BIBLIOGRAFÍA

- Bitman, J. y D. L. Wood. 1982. An improved copper reagent for quantitative densitometric thin-layer chromatography of lipids. *J. Chromatogr.* 5: 1155-1162.
- Blight, E. G. y W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Fernández-Reiriz, M. J., A. Pérez-Camacho, M. J. Ferreiro, J. Blanco, M. Planas, M. J. Campos y U. Labarta. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.
- Freeman, C. P. y D. West. 1966. Complete separation of lipid classes on a single thin-layer plate. *J. Lipid Res.* 7: 324-327.
- Hamasaki, K., K. Fukunaga, Y. Yoshida y K. Maruyama. 1991. Effects of marine microalgae *Nannochloropsis* sp., on survival and growth of rearing pelagic paralarvae of *Octopus vulgaris*, and results of mass culture in the tank of 20 metric tons. *Saibai - giken* 19: 75-84.
- Hayashi, K. y S. Yamamoto. 1987. Distribution of diacyl glyceryl ethers in the different tissues and stomach contents of gonatid squid *Beryteuthis magister*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 1057-1063.
- Henderson, R. J. y J. R. Sargent. 1985. Fatty acid metabolism in fish. En: *Nutrition and Feeding in Fish*. Cowey, C. B., A. M. Mackie y J. G. Bell (eds.): 349-364. Academic Press. Londres.
- Iglesias, J., F. J. Sánchez y J. J. Otero. 1997. Primeras experiencias sobre el cultivo integral del pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier) en el Instituto Español de Oceanografía. En: *Actas VI Congreso Nacional de Acuicultura* (9-11 de julio, 1997. Cartagena, Murcia, España). J. de Costa et al. (eds.): 221-226. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Iglesias, J., F. J. Sánchez, J. J. Otero y C. Moxica. 2000. Culture of octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier): Present knowledge, problems and perspectives. *Cahiers Options Méditerranéennes* 47: 313-321.
- Itami, K., Y. Izawa, S. Maeda y K. Nakai. 1963. Notes on the laboratory culture of the octopus larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 29 (6): 514-519.
- Jangaard, P. M. y R. G. Ackman. 1965. Lipids and component fatty acids of the Newfoundland squid, *Illex illecebrosus* (Le Sueur). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 22: 131-137.
- Lepage, G. y C. Roy. 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. Notes on methodology. *Journal of Lipid Research* 27: 114-120.
- Luaces-Canosa, M. y M. Rey-Méndez. 2001. El engorde industrial de pulpo *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) en jaulas: análisis de dos años de cultivo en la Ría de Camariñas (Galicia). En: *Convergencia entre Investigación y Empresa: un reto para el siglo XXI. Actas VII Congreso Nacional de Acuicultura* (19-21 de mayo, 1999. Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas, España). (Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas) H. Fernández-Palacios y M. Izquierdo (eds.) 4: 184-189. Instituto Canario de Ciencias Marinas ICCM. Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Moxica, C., J. J. Otero, J. Iglesias, y F. J. Sánchez. 2001. Comportamiento reproductor, puestas y desarrollo embrionario del pulpo *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) en cautividad. En: *Convergencia entre Investigación y Empresa: un reto para el siglo XXI. Actas VII Congreso Nacional de Acuicultura* (19-21 de mayo, 1999. Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas, España). (Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas) H. Fernández-Palacios y M. Izquierdo (eds.) 4: 549-554. Instituto Canario de Ciencias Marinas ICCM, Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Nash, D. M., C. A. Eaton y N. F. Crewe. 1978. Lipid classes and fatty acid composition of squid (*Illex illecebrosus*). *Technical Reports of the Fisheries and Marine Service of Canada* 833: 8 pp.
- Navarro, J. C. y R. Villanueva. 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183: 161-177.
- Villanueva, R. 1995. Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 2639-2650.